Beiträge zur biologischen Prüfung von Gerbstoffen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Fritz Sachse
Arzt in **Görbersdorf.**

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Rostock.
Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.
1914.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät zu Rostock.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kobert.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet!

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Einleitung 5
II. Das Wichtigste von der Chemie der Tannoide 6
III. Über Tannin 13
1. Literarisches 13
a. Chemisches 14
b. Verhalten des Tannins im Organismus 15
2. Eigene Versuche mit Tannin 17
a. Versuche an defibriniertem Blut 19
b. Versuche an Blutserum 23
c. Versuche an Blutkörperchensuspensionen 25
d. Versuche an Blutkörperchenlösungen 28
e. Versuche an Organzellen 30
IV. Über Neradol D 32
1. Einige orientierende Angaben 32
2. Eigene Versuche 36
V. Über Eichenrindengerbsäure 42
1. Einige orientierende Vorbemerkungen 42
2. Eigene Versuche 43
VI. Über einige weitere Gerbstoffe 48
1. Über Eutannin (Chebulinsäure) 48
2. Über die Gerbsäure der Granatrinde 49
3. Über ein Präparat aus Arecanüssen 49
4. Über Extractum Ligni campechiani siccum 50

I. Einleitung.

Mit Recht sagt W. Fahrion[1]), daß es kaum einen andern Zweig der angewandten Chemie gibt, der binnen zwei Jahrzehnten einen derartigen Aufschwung genommen hat wie die Gerbereichemie. Dieser Anforderung verdankt sie in erster Linie der internationalen Organisation der wissenschaftlichen, speziell der analytischen Arbeit durch die im Jahre 1897 erfolgte Gründung des Internationalen Vereins der Lederindustriechemiker (I. V. L. I. C.). Um diese Gründung haben sich besondere Verdienste erworben H. K. Prokter in Leeds, J. Gordon Parker in London und Franz Kathreiner in Worms. Die Erinnerung an letzteren, leider der Industrie und der Wissenschaft zu früh entrissenen Forscher lebt weiter in dem von ihm für das Organ des I. V. L. I. C. vorgeschlagenen Titel „Collegium". Der Verein zählt heute über 500 Mitglieder und zwar besteht je eine Sektion in Deutschland, Oesterreich-Ungarn, England, Frankreich, Italien, Belgien, Holland, Skandinavien, Spanien. In Amerika besteht eine analoge Gesellschaft unter dem Titel „American Leather Chemists Association". Bis vor kurzem lag der Schwerpunkt des Fortschrittes auf maschinellem Gebiete; jetzt ist ein neues Stadium eingetreten, in welchem theoretisch-wissenschaftliche Forschungen der Praxis zugute kommen. Fahrion gibt daher Stiasny[2]) Recht, wenn dieser sich

[1]) W. Fahrion, Die Gerbereichemie 1913. Zeitschrift f. angew. Chemie Jg. **27**, 1914, S. 457 des Aufsatzteiles.

[2]) Stiasny, Vortrag auf der International Chemical Engineering and Industrial Exhibition zu London im Juni 1913.

dahin ausspricht, daß die Fortschritte in der Lederindustrie in den nächsten 50—100 Jahren größer sein werden als in den letzten 1000 Jahren. Der theoretisch-wissenschaftliche Fortschritt beruht zum großen Teil darauf, daß man den Gerbprozeß als physikalisch-chemischen Vorgang aufzufassen angefangen hat. Mit Rücksicht gerade darauf sind vielleicht auch die recht elementaren Versuche der nachstehenden kleineren Arbeit nicht ohne Interesse.

II. Das Wichtigste von der Chemie der Tannoide.

Ich folge im Nachstehenden dem zusammenfassenden Berichte[1]), den einer der besten Kenner der Gerbstoffchemie M. Nierenstein in Bristol kürzlich gegeben hat.

Als Gerbstoffe, von Kunz-Krause[2]) in „Tannoide", von Nierenstein in „Tannide" umgetauft, bezeichnet man seit Alters eine Reihe organischer Stoffe des Pflanzenreiches, welche 1) zusammenziehend schmecken, 2) auf allen Schleimhäuten eine Veränderung der Schleimzellen im Sinne der Trockenlegung und Schrumpfung hervorrufen, 3) auf kleinen Wunden an irgend welcher Körperstelle eine Fällung oder Gerinnung des Inhaltes der Zellen der freiliegenden Gewebsoberfläche (Häutchenbildung) verursachen, 4) mit Eisensalzen dunkle Färbung geben, 5) mit Leimlösung, Mucinlösung und Eiweißlösungen Fällungen geben und auch mit leimgebendem Bindegewebe sich zu einer festeren, widerstandsfähigen, nicht faulenden Verbindung ver-

---

[1]) M. Nierenstein, Chemie der Gerbstoffe. [Sonderausgabe aus der Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge, herausgegeben von W. Herz, Bd. **15**], Stuttgart 1910.

[2]) Kunz-Krause, Pharmaz. Zentralhalle **39**, S. 401, 421, 441, 913, 936.

einigen. Letztere Verbindung nennt man Leder. Analoge Lederbildung wird auch durch zahlreiche Salze der Schwermetalle und durch einige künstlich hergestellte organische Stoffe bewirkt. Die Neuzeit hat den Prozeß der Lederbildung als Adsorption der Gerbstoffe an tierische Zellen, insonderheit an das Bindegewebe der vom Epithel befreiten Haut (der Blöße) erkannt. Auf diese Adsorption kann nachträglich eine echte chemische Bindung folgen, jedoch ist dies nicht nötig. Sehr eingehend hat sich mit der Theorie der Gerbung Joh. v. Schroeder[1]) beschäftigt. B. Kohnstein[2]) erklärt den Gerbeprozeß als Adsorption (Flächenanziehung) von kolloiden organischen oder anorganischen Verbindungen an durch Quellung in den Solzustand übergeführte eiweißartige Körper, und zwar zunächst tierische Membranen, zu denen sie eine gewisse chemische Affinität haben. Es entstehen dabei Verbindungen von ganz konstanter Zusammensetzung. Von unorganischen Stoffen kommen die Hydroxyde von Chrom, Tonerde, Eisen und Mangan in Betracht. Von organischen Stoffen gehören die in Rede stehenden Tannoide hierher. Es gibt aber ferner auch — und zwar nicht nur für die Gerbereitechnik sondern auch für medizinische Zwecke — eine Scheingerbung. Diese kommt zu stande 1) durch Aussalzen, 2) durch Wasserentziehung mittelst Alkohol, 3) durch direkte chemische Verbindung (Formalin). Auch 4) die pharmakotherapeutisch so viel benutzte Tonerdegerbung ist nur eine Scheingerbung. Die grobe mikroskopische Struktur der Haut

[1]) Joh. v. Schroeder, Zur Kenntnis des Gerbeprozesses, Dresden 1909. Gleichzeitig Inaug.-Dissert., Leipzig. Sonderausgabe aus den Kolloidchemischen Beiheften, hsgbn. von W. Ostwald, Bd. I.

[2]) B. Kohnstein, Chemiker-Zeitung 1914 Nr. 48, S. 516.

braucht durch den Übergang in Leder gar nicht verändert zu werden. Kobert konnte aus 1000 Jahr altem Leder den Gerbstoff mit Alkalien auslaugen und fand dann mikroskopisch ganz normale Cutisbilder.

Die oben aufgezählten fünf Merkmale sind ein buntes Durcheinander eigentlich chemischer Prozesse mit physikalisch-chemischen und physiologischen Vorgängen. Die Eisenreaktion, die schon dem Altertum[1]) bekannt war, und auf der der Tintenbildungsprozeß zweier Jahrtausende beruht, wurde zuerst von Wahlenberg[2]) systematisch herangezogen, um eine große Gruppe von Stoffen als Gerbstoffe zusammenzufassen. Auch Geiger, Cavallius und Reinsch nannten in den vierziger Jahren alles Gerbstoff, was mit Eisenchlorid sich dunkelblau oder dunkelgrün färbt. Büchner[3]) sah zuerst ein, daß diese Definition eingeschränkt werden muß. Nickel[4]) erklärte die Gerbstoffe als Phenole und sagte, daß ihnen aus diesem Grunde auch die Eisenphenolreaktion zukommt.

Stenhouse[5]) sowie Procter fanden die außerordentlich wichtige Tatsache, daß die mit Eisenchlorid sich blau-schwarz färbenden Gerbstoffe bei der Kalischmelze Gallussäure liefern, während die mit Eisenchlorid grünschwarz färbenden bei der Kalischmelze Protokatechusäure liefern. Somit können die Gerbsäuren nach Stenhouse-Procter in zwei große Klassen geteilt werden.

---

[1]) Siehe R. Kobert, über antike Tinte. Arch. d. Gesch. der Naturwissenschaften, Bd. **1**, 1909.

[2]) G. Wahlenberg, de Sedibus materiarum imediatarum in plantis tractatis. Upsala 1806—1807.

[3]) Büchner, Annalen der Chemie, Bd. **53**, 1845, S. 175 u. 349.

[4]) Nickel, Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen. Berlin 1890 u. weitere Auflagen.

[5]) Stenhouse, Ann. der Chem. **45**, 1842, S. 1; Philosoph. Mag. [4] **7**, 1854, S. 21; Proceed. Royal Soc. **11**, 1861, S. 401.

Für pharmakognostische Forschungen ist von Wichtigkeit geworden, daß einige Gerbstoffe beim Liegen der gerbhaltigen Drogen an der Luft „Blume“ liefern, während andere Phlobaphenbildung, d. h. dunkle Verfärbung, zeigen. Die Blumenbildung kommt den Verwandten der Gallussäure zu, während die Oxydationsprodukte der Pyrokatechugerbstoffe Phlobaphenbildung zeigen. Der Vorgang der Blumenbildung setzt ein wasserlösliches Glukosid der Ellagsäure, das dabei hydrolysiert und dessen Aglykon oxydiert wird, voraus. Die Identität der Blume mit der Ellagsäure wurde von Nierenstein[1]) mit aller Sicherheit festgestellt. Das Wort Phlobaphene stammt von Stählen und Hofstetter[2]), die darunter die roten und dunkelbraunen Produkte verstehen, welche sich besonders nach Zusatz von Säure in wässrigen Gerbstoffauszügen aus Rinden und Früchten bilden. Hesse[3]), Hlasiwetz[4]) und Grabowski[5]) zeigten, daß das natürliche Gerberrot ein solches Plobaphen ist. Für das Eichenrot konnte Böttinger[6]) dasselbe nachweisen. Nach Tschirch[7]) fällt bei der Chinarinde die Rotfärbung weg, wenn die frischabgezogene Rinde sofort in ein sauerstoffreies Medium gebracht wird. Er nimmt in den Rinden Oxydasen an, die bei Zutritt der Luft die oxydative Färbung bewerkstelligen. Nierenstein[8]) konnte jedoch mittelst verschiedener Oxydasen aus Quebrachogerbsäure kein Phlobaphen erzeugen. Viele Autoren sehen die Phlobaphene

---

[1]) Nierenstein, Chem. Ztg. **33**, 1909, S. 87.

[2]) Stählen u. Hofstetter, Ann. d. Chemie, Bd. **51**, 1844, S. 63.

[3]) Hesse ebenda, Bd. **109**, 1860, S. 343.

[4]) Hlasiwetz ebenda, Bd. **143**, 1867, S. 305.

[5]) Grabowski ebenda, Bd. **142**, 1867, S. 274.

[6]) Böttinger ebenda, Bd. **202**, 1880, S. 269; Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **17**, 1884, S. 1123.

[7]) Tschirch, Chem. Bl. 1891, Bd. I, S. 583.

[8]) Nierenstein, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. **40**, 1907, S. 4575.

als Anhydride von Gerbstoffen an; so soll nach Etti[1]) z. B. Eichenrindegerbsäure die Formel $C_{34}H_{30}O_{17}$ und und ihr Phlobaphen die Formel $C_{34}H_{28}O_{16}$ haben. Jaffé[2]) hinwiederum sprach die Vermutung aus, daß die Phlobaphene Anthracenderivate seien, was für einzelne, wie z. B. für das Quebrachophlobaphen in der Tat zutrifft. Noch andere Autoren erklären die Entstehung der Phlobaphene durch Hydrolyse. Bei längerem hydrolytischem Zerkochen mit verdünnter Schwefelsäure liefern nämlich viele Gerbstoffe neben Glykose ein Phlobaphen.

Von Fällungs- und Färbungsreagentien sind außer Leimlösung und Eisenchlorid noch Bleiacetat, Kalilauge, Ammoniak, Barytwasser, Kalkwasser, Kupfersulfat, Silbernitratammonium, Bromwasser, Uranylacetat, rauchende Salpetersäure, Ammoniummolybdat und Ferricyankalium sowie Formaldehydsalzsäure zu nennen. Für rein botanische Zwecke kommen viele andere, die ich hier übergehe, ebenfalls mit in Betracht. Das Kilianische Digitalinreagenz wurde von Brissemoret empfohlen. Es verstattet nach der dabei eintretenden Färbung die Tannoide in drei Gruppen zu teilen:

I. Eine grüngelbe bis rötliche Färbung geben dis Gallussäuretannoide. Diese liefern bei der trocknen Destillation Pyrogallol, bei der Hydrolyse Gallussäure. Hierher gehören die Ellagsäure, das Hamamelitannin und die Kinogerbsäure.

II. Eine scharlachrote auf den Vinylbrenzkatechinkern weisende Färbung geben die Kaffeetannoide. Bei trockner Destillation liefern sie Brenzkatechin und bei der Hydrolyse Glukose und Kaffeesäure. Die Alkalischmelze liefert Protokatechusäure und Essigsäure. Hierher gehören Kaffeegerbsäure, Chinagerbsäure und Kakaogerbsäure.

III. Eine meist dunkelrote Färbung liefern die Phloroglucintannoide. Bei trockner Destillation geben sie Brenzkatechin, bei Hydrolyse Protokatechusäure, Phloroglucin und häufig Fettsäuren. Hierher gehören Eichengerbsäure, Filixgerbsäure, Quebrachogerbsäure, Kolagerbsäure und Katechin.

[1]) Etti, ebenda, **14**, 1881, S. 1826.
[2]) Jaffé, ebenda, **3**, 1871, S. 695.

Pharmakognostisch von Wichtigkeit ist die alte Wagnersche Einteilung (1866) in physiologische und pathologische. Die Anschauung, daß die pathologischen Gerbstoffe in physiologischen Pflanzenteilen nicht vorkämen, besteht jedoch nicht mehr zu Recht.

Klassifikationsversuche rein chemischer Art der Gerbstoffe liegen außer den oben angeführten noch viele vor, so von Procter, Trimble, Braemer und neuerdings namentlich von Kunz-Krause und von Dekker.

Kunz-Krause unterscheidet zwei Hauptgruppen, glykosidische und nicht glykosidische Tannoide, die er dann weiter in folgender Weise einteilt.

I. Gruppe: Ausgangsverbindungen.
   1. Die Oxysäuren der Benzolreihe, Protokatechusäure und Gallussäure.
   2. Die Oxysäuren der Styrolreihe, Dioxyzimmtsäure (Kaffeesäure).

II. Gruppe: Tannoide im engern Sinne.
   1. Protokatechutannoide und zwar Protokatechu-Anhydridtannoide, Protokatechu-Ketotannoide, Oxydationsprodukte der Oxysäuren der Protokatechureihe, endlich Kondensationsprodukte der Oxysäuren dieser Reihe.
   2. Gallotannoide und zwar Gallo-Anhydridtannoide, Galloketotannoide, Oxydationsprodukte der Oxysäuren der Gallussäurereihe und Kondensationsprodukte dieser Oxysäuren. Zu den Gallo-Anhydridtannoiden rechnet unser Autor die Digallussäure und die Trigallussäure. Nach Emil Fischer gehört die Galläpfelgerbsäure jedoch zu den Glykotannoiden.

III. Gruppe: Glykotannoide.
   1. Protokatechu-Glykotannoide. Hierher gehört die Kaffeegerbsäure und die Chinagerbsäure.
   2. Galloglykotannoide. Hierher gehört jetzt das Tannin der offizinellen Galläpfel.

IV. Gruppe: Phloroglukotannoide.
   1. Protokatechu-Phloroglukotannoide. Hierher gehören die Quebracho-, die Katechugerbsäure, wahrscheinlich auch die Filixgerbsäure, die Hopfengerbsäure, die Ratanhiagerbsäure sowie die Kolagerbsäure.
   2. Gallo-Phloroglukotannoide.

Dekker[1]) teilt die Gerbstoffe folgendermaßen ein:

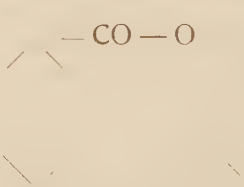
I. Farbstoffe, z. B. Katechin.

II. Unechte Gerbstoffe wie Kaffee-, Maté-, Hopfengerbsäure.

III. Echte Gerbstoffe:

1. Gallussäuregruppe. Hierher die Gallusgerbsäure, die Teegerbsäure, die Sumachgerbsäure.
2. Ellagsäuregruppe. Hierher der Dividivi-, Algarobill-, Myrobalanen- und Granatrindengerbstoff.
3. Eichenrindengerbstoffe. Hierher alle übrigen Gerbstoffe.

Nach Nierenstein[2]) liegt allen Gerbstoffen eine hypothetische Muttersubstanz, das Tannon, zugrunde. Es handelt sich also um Tannokarbonsäuren, in



denen der Gallussäurerest oder andere aromatische Säurereste vorkommen.

Den Weg der Synthese von Gerbstoffen hat namentlich Emil Fischer[3]) mit Erfolg beschritten. Er nennt seine Gerbstoffe Depside (vom griechischen depsein, gerben). Wie bei den Peptiden werden auch bei den Depsiden Di-, Tri-, Tetradepside etc. unterschieden. Der Gedankengang bei der Synthese der Depside ist folgender: Kuppelt man die Chloride der Karbomethoxy-

[1]) J. Dekker. Die Gerbstoffe. Botanisch-chemische Monographie der Tannide. Berlin 1913.

[2]) Nierenstein, Chem. Ztg. **30**, 1906, S. 1101.

[3]) E. Fischer und seine Mitarbeiter. Ber. d. Deutschen Chem. Ges. **41**, 1908, S. 2875; **42**, 1909, S. 215 u. 1015; Annalen der Chemie **372**, 1910, S. 32 etc. etc.

bezw. Karboäthoxyphenolkarbonsäuren mit den Natriumsalzen der Phenolkarbonsäuren, so entstehen hierbei esterartige Produkte. Diese Verbindungen gehen dann bei vorsichtigem Verseifen in die entsprechenden Oxyderivate über. Auch mit den Depsidglykosiden hat sich Fischer beschäftigt, wie wir gleich noch besprechen werden. Seit dieser Zeit ist es üblich geworden, synthetische Gerbstoffe auch für die Praxis zu suchen, für die Tannin ja nicht in Betracht kommt. Es handelt sich hier bis jetzt namentlich um eine Substanz, die von E. Stiasny[1]) erfunden wurde. Sie soll nach Ansicht der Gegner Stiasnys kein echter Gerbstoff, sondern nur eine gerbstoffähnliche Substanz sein. Der Erfinder nennt sie Syntan, ein Wort, das allerdings etymologisch nicht einwandfrei ist. Zu ihrer Herstellung werden Phenole mit einer entsprechenden Menge von Schwefelsäure einige Stunden auf 100—120° erhitzt; der erkalteten Masse wird unter Umrühren Formaldehyd (1 Mol. auf 2 Mol. Phenol) zugesetzt und dann die überschüssige Schwefelsäure neutralisiert. Die Produkte sind teigförmig und erinnern im Aussehen an pflanzliche Gerbextrakte. Die Herstellung hat die Badische Anilin- und Sodafabrik übernommen. Sie bringt bis jetzt nur eins derselben, das den Patentnamen Neradol D führt, in den Handel, und über das ich weiter unten noch genauer sprechen werde.

III. Über Tannin.

1. Literarisches.

Von allen Gerbstoffen ist das Tannin, d. h. die Gerbsäure unserer Eichengalläpfel, medizinisch der weitaus wichtigste, während er für die Lederfabrikation der unwichtigste ist, ja geradezu gar nicht in Betracht kommt.

---

[1]) Collegium, 1913, S. 139, 165, 320, 429; Zeitschr. f. Angew. Chemie **26**, 1913, II, S. 527.

a. **Chemisches.** Tannin wurde 1787 von Scheele zuerst aus den Galläpfeln dargestellt und von Kunzemüller und Richter als das zusammenziehende Prinzip der Galläpfel erkannt. Die Einführung des Wortes „Tannin“ geht auf Proust (1799) zurück. Er unterscheidet es bereits sehr scharf von der Gallussäure. Daß das Tannin N-frei ist, erkannte zuerst Turner (1812). Trommsdorff (1804) reinigte es über das Kalium-Kalksalz und beschrieb verschiedene Salze. Eine Formel stellte zuerst Berzelius (1827) auf, nämlich $C_{18}H_{18}O_{12}$; Liebig wandelte sie 1834 in $C_{18}H_{16}O_{12}$ um. 1843 entdeckte Pelouze, daß beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure aus Tannin Gallussäure wird; Liebig bestätigte dies. Gorup-Besanez (1859) oxydierte das Tannin mittelst verdünnter Salpetersäure zu Oxalsäure. 1850 stellte Mulder die Formel $C_{28}H_{18}O_{17}$ auf, die nach Dekker sich nur um ein Mol. Wasser von der jetzt gültigen unterscheidet. Ob das Tanninmolekül einen Zuckerpaarling vorstellt oder nicht, war lange Zeit strittig. Streckers Arbeiten aus den Jahren 1852–54 hatten bereits erwiesen, daß die Hydrolyse neben Gallussäure Traubenzucker liefert. Die hervorragendsten späteren Autoren haben dies bestritten und versucht, das Tannin als Digallussäureanhydrid hinzustellen, dem nur als Verunreinigung meist Spuren von Zucker anhafteten. Emil Fischer und Freudenberg[1]) fanden jedoch, daß das Galläpfeltannin in der Tat ein Glukosid ist und zwar wahrscheinlich Pentadigallolylglukose. Sie konnten eine dem Tannin sehr ähnliche Pentagallolylglukose sogar synthetisch darstellen. Wahrscheinlich sind eine ganze Reihe von Gerbstoffen Verbindungen von Traubenzucker mit Gallussäure oder Digallussäure. Es ist zu vermuten,

[1]) E. Fischer u. Freudenberg, Ber. d. Deutschen Chem. Ges., Jg. **45**, 1912, S. 915 u. 2709; Jg. **46**, 1913, S. 3272.

daß auf dem Wege, den Fischer eingeschlagen hat, sich viele solche werden künstlich darstellen lassen. Auch theoretisch und pflanzenphysiologisch sind Fischers Versuche von großem Interesse. Sie zeigen, daß der Traubenzucker analog dem Glyzerin befähigt ist, im Organismus der Pflanze Säuren zu binden und dadurch zu neutralisieren. So erscheint uns die Rolle der Gerbstoffe als Reservestoffe der Pflanzen verständlich. Außer Fischer haben auch K. Feist und H. Haun[1]) sich in letzter Zeit mit dem Tannin eingehend beschäftigt. Sie fanden, daß das Tannin aus Chinagallen mit den aus türkischen nicht identisch ist. Sie nennen ersteres chinesisches Tannin und letzteres türkisches Tannin. Sie vermuteten, daß nur das türkische ein Glukosid sei, ersteres dagegen Polydigallolyl-Leukodigallussäureanhydrid. Die Hydrolyse ergab aber bei beiden Zucker, nur nicht bei beiden gleich viel. Das chinesische lieferte 5,8 % Zucker, das türkische 9,1 %. Auch A. Geake und M. Nierenstein[2]) sowie Leo F. Iljiin[3]) fanden im gewöhnlichen Tannin gebundenen Zucker; Iljiin spricht es als Pentadigallolylglukose an.

b. Die Frage nach dem **Verhalten des Tannins im Organismus** nach innerlicher Darreichung hat L. Lewin[4]) geglaubt dahin beantworten zu können, es werde als Peptontannat resorbiert und wandele sich im Blute in Alkalitannat um. Ribbert[5]) nahm ebenfalls an, das Tannin gelange als solches bis in die Niere und könne

---

[1]) K. Feist u. H. Haun. Archiv der Pharmazie, Bd. **251**, 1913, S. 468.

[2]) A. Geake u. M. Nierenstein, ebenda, S. 891.

[3]) Leo F. Iljiin, Ber. d. Deutschen Chem. Ges., Jg. **47**, 1914, S. 985.

[4]) L. Lewin, Virch. Arch. Bd. **81**, 1880, S. 74.

[5]) Ribbert, Cbl. f. d. med. Wissensch., Jg. **20**, 1882, Nr. 3, S. 36.

hier bei Albuminurie nützen. Versuche von Briese[1]) an Patienten mit Albuminurie taten aber bald die Unrichkeit dieser Anschauung dar, indem bei keinem der Patienten eine Besserung des Leidens eintrat. R. Stockman[2]) wies nach, daß bei Hunden innerlich gereichtes Tannin im Magendarmkanal in Gallussäure zerlegt wird, während er Alkalitannat als unzersetzt resorbierbar bezeichnet. Überaus wichtig sind Versuche von Mörner[3]) an Menschen und Hunden. Bei Menschen trat nach Einnehmen von 1—7 g Tannin weder unveränderte Galläpfelgerbsäure noch Gallussäure in Harn und Kot auf. Erst bei Einnehmen von 8 g Tannin erscheint im Harn 0,5—1,0 % davon wieder, aber nicht als Tannin, sondern als Gallussäure, während bei Darreichung einer gleichen Dose von Gallussäure etwa 30 % davon im Harn wieder erschienen. An Hunden waren die Ergebnisse analoge. Die Gallussäure wird also offenbar sehr rasch aus dem Darm resorbiert, die Galläpfelgerbsäure aber langsam und erst nach quantitativer Zerlegung zu Gallussäure. H. H. Meyer und Gottlieb[4]) sagen: „Die resorbierte Gallussäure wird zum allergrößten Teile verbrannt; zu einem kleineren erscheint sie frei oder als gepaarte Schwefelsäure im Harn. Gerbsäure als solche geht nicht in den Harn über. Sie wird schon bei der Resorption durch die Darmzellen vollständig in gallussaures Alkali verwandelt, welches kein Adstringens mehr ist. Eine adstringierende oder styptische Fernewirkung der Gerbsäure auf Lunge, Niere usw. ist deshalb nicht anzunehmen.“ In diesem

[1]) Briese, Über die Wirkung des Natron tannicum. Dissert. Greifswald 1882.

[2]) R. Stockman, British med. Journ. 4. Dez. 1887, S. 1077.

[3]) Mörner, Ztschr. f. physiol. Chem., Bd. **16**, 1892, S. 255.

[4]) H. H. Meyer u. Gottlieb, die experimentelle Pharmakologie, dritte Aufl. 1914, S. 204.

Sinne hat sich auch Kobert in seinen Büchern jederzeit ausgesprochen.

Versuche mit Einspritzung von Tanninlösungen ins Blut hat unter Leitung von Kobert Viktor Bauer[1]) gemacht. Uns interessiert davon nur, daß solche Einspritzungen recht giftig sind und zwar für verschiedene Tierklassen. Auch dieses parenteral beigebrachte Tannin wird zu Gallussäure abgebaut und erscheint zum Teil als solche im Harn. Daß das intravenös injizierte Tannin, auch wenn die Lösung vorher schwach alkalisch gemacht worden war, das Blut schädigt, ist leicht zu verstehen. Bauers Tiere zeigten Ikterus, Hämoglobinurie und Hämosiderinbildung. Versuche Bauers an Blut, das mit Tannin versetzt wurde, zeigten, daß das Blut dabei schwer verändert wird. Meine Versuche sollten gerade darüber weitere Aufklärung bringen.

2. Eigene Versuche mit Tannin.

Zu meiner Verwendung standen drei verschiedene Tanninpräparate. Zunächst ein mindestens 20 Jahre altes Sammlungspräparat von dunkelbrauner Farbe, welches ich im nachstehenden als „altes Tannin“ bezeichnen werde, zweitens Acidum tannicum levissimum von Schering, von mir als „Scheringsches Tannin“ bezeichnet, endlich Acidum tannicum purissimum extrahell von E. Merck. Die beiden letzten Präparate dürften das Beste sein, was von Tanninpräparaten im Handel zu haben ist. Alle drei Präparate wurden in physiol. Kochsalzlösung in Konzentrationen von 1 : 100 bis 1 : 2000 verwendet. Die Lösungen wurden sterilisiert und von Zeit zu Zeit erneuert.

---

[1]) Viktor Bauer, Beiträge z. Kenntnis des Tannins u. einiger verwandter Substanzen Diss. Dorpat 1896.

Zum Nachweis des Tannins gibt es viele Reaktionen, die sich bei Bauer[1]) aufgezählt finden. Für meine Zwecke genügten die Leimreaktion und die Eisenchloridreaktion. Letztere schützt jedoch natürlich nicht vor Verwechslung mit der Gallussäure. Gelegentlich wurde noch die Bleireaktion zuhilfe genommen.

Von Blutarten wurden nach Möglichkeit stets mehrere verwendet und zwar in 2—5%iger Suspension. Blutkörperchen, die in 1—2%iger Aufschwemmung zur Verwendung kamen, wurden teils durch Zentrifugieren und dreimaliges Waschen, teils nur durch Absetzen gewonnen; letztere wurden dann als serumarme Blutkörperchen, erstere als serumfreie bezeichnet. Das Menschenblut stammte immer aus der Placenta. Für gewöhnlich wurde in eine Reihe von 7 Reagenzgläschen je 5 ccm Blutsuspension oder Körperchenaufschwemmung gebracht und dazu in Glas I und VII je 5 ccm physiol. Kochsalzlösung. Diese beiden Gläschen dienten als Kontrollen. In die übrigen 5 Gläschen kamen Gemische von Tanninlösung mit physiol. Kochsalzlösung, deren Summe je 5 ccm betrug. Aus 2%igem Blut wurde auf diese Weise dann stets 1%iges. Nach einmaligem Umkehren blieben die Gläschen bei Stubentemperatur sich selbst überlassen; nach spätestens 24 Stunden wurde das Endergebnis abgelesen, während bei größeren Dosen oft schon nach wenigen Minuten die Wirkung sehr auffällig sichtbar wurde. Worin diese bestand, werden wir sogleich erfahren. Ich führe zunächst einige Versuche in extenso und die weiteren verkürzt an.

Naturgemäß zerfallen die Versuche in fünf Gruppen, nämlich in solche an defibriniertem Blut, an Blutserum, an Blutkörperchensuspension, an Blutkörperchenlösung und an suspendierten Organzellen.

[1]) Victor Bauer l. c., S. 19—21. Siehe ferner Biochem. Ztschr. Bd. **52**, 1913, S. 271.

a. Versuche an defibriniertem Blute.

Versuch 1. Altes Tannin; 2% Rinderblutsuspension, in jedem Gläschen 5 ccm (abgekürzt Rbl) + 5 ccm eines Tanninkochsalzgemisches. ClNa bedeutet immer physiol. Kochsalzlösung, T bedeutet Tannin, die römischen Zahlen die Nummern der Gläschen.

I.	5 ccm	Rbl	+ 5 ccm	ClNa	als erste Kontrolle.				
II.	5 „	„	+ 4 „	„	+ 1 ccm	1%	T	(10 mg	T).
III.	5 „	„	+ 3 „	„	+ 2 „	„		(20 mg	T).
IV.	5 „	„	+ 2 „	„	+ 3 „	„		(30 mg	T).
V.	5 „	„	+ 1 „	„	+ 4 „	„		(40 mg	T).
VI.	5 „	„	+ 0 „	„	+ 5 „	„		(50 mg	T).
VII.	5 „	„	+ 5 „	„	als zweite Kontrolle.				

Schon eine Minute nach dem Aufstellen der Gläschen ist das Aussehen von II—VI sehr abweichend von I und VII. Während in diesen beiden Kontrollen erst nach Stunden die Blutkörperchen langsam zu Boden fallen, treten in den Tanningläschen rasch rote Flocken auf, die sich schnell zu Boden senken, wo sie einen sehr voluminösen ziegelroten Bodensatz bilden, der sich auf einem nicht angefeuchteten Filter bequem sammeln läßt und sich hier zu siegellackartigen roten Klumpen ballt, die zum Verwechseln den durch Abrin, Ricin, Bohnenphasin etc. erzeugten ähnlich sehen, während die Filtrate wie bei den genannten Agglutininen wasserklar ist. Schütteln des Filterrückstandes mit dest. Wasser, dem ein Tropfen einer 5%igen Natriumkarbonatlösung zugesetzt ist, läßt schön rotes Oxyhämoglobin (O_2Hb) in Lösung gehen.

Versuch 2 mit denselben Mengen desselben Tannins an Hundeblut angestellt verläuft gerade so.

Versuch 3 mit denselben Mengen desselben Tannins an Menschenblut angestellt verläuft ebenfalls gerade so.

Ergebnis: Für defibriniertes mit phys. Kochsalzlösung 100fach verdünntes Rinder-, Hunde- und Menschenblut bildet Galläpfel-Gerbsäure, und zwar selbst ganz alte, in Mengen von 10—50 mg auf 10 ccm Volumen ein sehr rasch und sehr vollständig wirkendes Ausflockungsmittel. Das Filtrat enthält von Blutfarbstoff keine Spur. Der Niederschlag enthält ihn quantitativ in unlöslicher Form. Bei Untersuchung vegetabilischer Auszüge auf Agglu-

tinine[1]) würde also die Anwesenheit von Tannin die schwersten Irrtümer bedingen. Wie im Agglutininniederschlag ist auch im Tanninniederschlag das Hämoglobin bei kurz dauerndem Stehen der Gläschen zunächst nicht geschädigt, so daß es durch destilliertes Wasser unter Zusatz einer Spur von kohlensaurem Natrium quantitativ in Lösung gebracht werden kann und prachtvolle Oxyhämoglobin-Streifen zeigt.

Versuch 4. Altes Tannin; 2%ige Rinderblutsuspension.

I.	5 ccm	Rbl	+ 5 ccm	ClNa	als erste Kontrolle.
II.	5 „	„	+ 5 „	enthaltend	9 mg T.
III.	5 „	„	+ 5 „	„	8 mg T.
IV.	5 „	„	+ 5 „	„	7 mg T.
V.	5 „	„	+ 5 „	„	6 mg T.
VI.	5 „	„	+ 5 „	„	5 mg T.
VII.	5 „	„	+ 5 „	ClNa	als zweite Kontrolle.

Bei Glas II—IV beginnt die Ausflockung schon in den ersten 10 Minuten; bei V—VI ist sie nach $^3/_4$ Stunden total. Die Filtrationsprobe ergibt bei V und VI nicht sofort, wohl aber nach zwei bis dreimaligem Aufgießen ein farbloses Filtrat.

Versuch 5 u. 6 sind Winderholungen von 4 mit Hunde- und Menschenblut und verlaufen analog; bei 5 mg gelingt die Filtration am besten bei Menschenblut, bei den beiden andern nicht ganz vollkommen.

Ergebnis: Noch bei 5 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 2000 wirkt die alte Galläpfelgerbsäure unseres Institutes auf 1%iges Menschenblut quantitativ ausflockend, auf 1%iges Blut des Rindes und des Hundes erst bei etwas größerer Dose.

Versuch 7. Altes Tannin, 2%ige Rinderblutsuspension.

I.	5 ccm	Rbl	+ 5 ccm	ClNa	als erste Kontrolle.
II.	5 „	„	+ 5 „	enthaltend	5 mg T.
III.	5 „	„	+ 5 „	„	4 mg T.
IV.	5 „	„	+ 5 „	„	3 mg T.
V.	5 „	„	+ 5 „	„	2 mg T.
VI.	5 „	„	+ 5 „	„	1 mg T.
VII.	5 „	„	+ 5 „	ClNa	als zweite Kontrolle.

[1]) Siehe R. Kobert, Beitr. z. Kenntnis der veget. Hämagglutinine, Teil I u. II. Berlin 1913.

Die Gläschen wurden spät abends aufgestellt. Früh waren in den beiden Kontrollen alle Blutkörperchen niedergefallen und bildeten einen kaum 1 mm hohen Bodensatz. In den andern 5 Gläsern war der Bodensatz bei II am größten und nahm nach VI hin gleichmäßig ab, war aber in VI immerhin noch merklich größer als in VII. Filtration gibt nirgends farbloses Filtrat.

Versuch 8. Alles wie bei 7, nur wird nicht Rinder- sondern Menschenblut verwendet. Auch hier am andern Tage entsprechend der Menge des alten Tannins höhere Niederschläge als in den Kontrollen. Filtration gelingt bei 5 mg; das Filtrat ist farblos. Beim Waschen dieses Niederschlages mit etwas phys. ClNa verschwindet im Waschwasser rasch die Eisenreaktion der Gerbsäure. Wird jetzt aber der Filterrückstand mit heißem Alkohol übergossen, so ergibt das Filtrat wieder Eisenreaktion.

Ergebnis: Wiederum zeigt sich, daß das alte Tannin bei 1:20000 auf Menschenblut gerade noch agglutinierend wirkt, auf Rinderblut aber nicht mehr. Der Niederschlag durch 5 mg Tannin läßt sich bei Menschenblut leicht tanninfrei waschen, gibt aber dann an heißem Alkohol wieder eine mit Eisenchlorid reagierende Substanz ab; Tannin muß also an den Niederschlag adsorbiert oder locker gebunden gewesen sein.

Versuch 9. Altes Tannin, 2%ige Ziegenblutsuspension. Dosen von 20—50 mg T., in je 5 ccm physiol. ClNa gelöst, werden zu je 5 ccm der Suspension gesetzt. In allen Gläschen erfolgt rasch sehr voluminöse ziegelrote Ausflockung, und die Filtration ergibt ein farbloses Filtrat. Die Kontrollen setzen erst über Nacht ab und lassen alle Blutkörperchen durch das Filter gehen. Die Tanninfilterrückstände werden mit phys. ClNa gewaschen. Sobald das Filtrat mit Eisenchlorid nicht mehr reagiert, werden die Filter trocken gesaugt und mit heißem Alkohol im Reagenzglas extrahiert, wobei sofort reichlich eine mit Eisenchlorid sich schwärzende Substanz in Lösung geht.

Versuch 10. Da das alte Tannin merklich sauer reagiert, wird obiger Versuch mit einer scharf neutralisierten Lösung wiederholt, fällt aber ebenso aus, nur daß die rote Farbe der Niederschläge, die sich meist nur einige Stunden unverändert hielt, hier eine längere Dauer hatte.

Ergebnis: Wie auf Rinder-, Hunde- und Menschenblut, so wirkt unser altes Tannin auch auf Ziegenblutsuspension sehr rasch total ausflockend und ermöglicht ein wasserklares, farbloses Filtrat. Neutralisieren ändert an dem Ablauf der Erscheinungen nichts. Die mit physiol. Kochsalzlösung ausgewaschenen Niederschläge geben an heißem Alkohol reichlich eine Substanz ab, die sich mit Eisenchlorid blauschwarz färbt. Es muß also Tannin auch vom Ziegenblutniederschlag adsorbiert oder sonstwie locker gebunden gewesen sein.

Versuch 11. Scheringsches Tannin, 2%ige Menschenblutsuspension. In 5 Gläschen Dosen von 2—10 mg des Gerbstoffes, in je 5 ccm ClNa gelöst, und dazu je 5 ccm Suspension. Es bilden sich rasch die üblichen Flocken, die absichtlich 24 Stunden sich selbst überlassen werden. Nach dieser Zeit ist in beiden Kontrollgläschen ein nur 1 mm hoher Niederschlag, in den anderen Gläschen aber ein um so höherer, je mehr Tannin zugesetzt worden ist. Die Farbe ist überall noch ziegelrot, während sie bei altem Tannin nach 20 Stunden braunrot zu sein pflegt. Die Filtration ergibt bei 10—6 mg T. sofort eine farblose Flüssigkeit, bei 4—2 mg erst nach mehrmaligem Aufgießen. Die Filtrate geben alle die Eisenchloridreaktion, dagegen fehlt die Leimreaktion. Auch die mit heißem Alkohol gemachten Auszüge der gewaschenen Niederschläge geben nach Verdunsten des Alkohols wohl Eisenreaktion, aber nicht oder nur sehr undeutlich die Leimreaktion.

Ergebnis: Das Scheringsche Tannin wirkt wie das alte Tannin unsrer Sammlung auf Menschenblutsuspension ausflockend. Der sich dabei bildende siegellackrote Niederschlag hält sich 20 Stunden unverfärbt, während er bei dem alten Tannin sich nach dieser Zeit rotbraun verfärbt hatte. Das in der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit enthaltene Tannin erleidet bei dem Scheringschen Präparate z. T. eine Spaltung in Gallussäure. Dasselbe gilt von dem

im Niederschlag gebundenen, durch heißen Alkohol aber ausziehbaren. Bei dem alten Tannin war eine solche Spaltung entweder gar nicht oder nur in geringem Grade nachweisbar.

Versuch 12. Scheringsches Tannin, 2%ige Menschenblutsuspension. Anordnung wie bei Versuch 11, nur sind die Dosen kleiner, nämlich 2,5 mg — 0,5 mg. Nach 24 Stunden sind selbst die beiden stärksten Dosen nicht imstande ein klares Filtrat zu liefern. Unzersetztes Tannin ist in keinem Gläschen nachweisbar, wohl aber Gallussäure.

Ergebnis: Auch diesmal hat das Menschenblut die zugesetzten Mengen des Scheringschen Tannins gespalten.

Versuch 13 und 14 sind genaue Wiederholungen der Versuche 11 und 12, nur wurde statt Scheringsches Tannin das Merckschе genommen. Dieses verhielt sich in zweierlei Hinsicht abweichend vom Scheringschen. Zunächst verfärbten sich die Niederschläge wie die durch altes Tannin nach 12—16 Stunden braunrot. Ferner war wie beim alten Tannin bei Mengen über 0,5 mg ein Teil des Präparates auch nach 24 Stunden noch ungespalten.

Ergebnis: Der Ausflockungsniederschlag hält sich bei Scheringschem Tannin länger als beim Merckschen schön rot, so daß er noch nach 24 Stunden lediglich Oxyhämoglobinlösung gibt, falls man Spuren von Natriumkarbonat zusetzt. Das Tanninmolekül wird aber beim Scheringschen Präparate leichter unter Bildung von Gallussäure zerlegt als beim Merckschen und beim alten Tannin. Bakterien spielen dabei so gut wie keine Rolle.

b. Versuche an Blutserum.

Versuch 15. Merckssches Tannin, 5%iges Kaninchenserum, durch Zentrifugieren und Verdünnen mit physiol. ClNa gewonnen. In jedem der sieben Gläschen 5 ccm davon sowie in Glas I und VII je 5 ccm ClNa und in den andern 5 Gläschen 10—50 mg Tannin. Sofort nach dem Zusatz erfolgt überall eine voluminöse schneeweiße Fällung. Noch nach 16stündigem Absetzen ist diese in Glas VI fast ebenso hoch, als die Flüssigkeitssäule war, und in Glas II

nicht viel niedriger. Im klaren Filtrat selbst bei II reichlich Gerbsäure und bei III—VI keine Spur von Eiweiß.

Ergebnis: Wie längst bekannt ist, werden Eiweißstoffe und daher auch die des Blutserums durch Tannin gefällt. Bei größeren Dosen ist diese Fällung quantitativ. Es ist daher selbstverständlich, daß die Niederschläge in Versuch 1—14, wenigstens wo größere Dosen von Gerbsäure angewandt wurden, außer den Blutkörperchen auch Serum enthalten. So wird es verständlich, daß wiederholt das Volumen der roten Niederschläge proportional der zugesetzten Tanninmenge war, obwohl in allen doch stets die genau gleiche Menge von Blutkörperchen enthalten war.

Versuch 16 wird ganz analog dem vorigen angestellt, nur sind die Mengen des Merckschen Tannins 10 mal kleiner, d. h. sie betragen 1—5 mg. Bei Glas VI tritt unter der Einwirkung von 5 mg rasch eine dreiviertel der Flüssigkeitssäule betragende Fällung ein. Bei 4 mg ist die Fällung etwa 1 cm hoch, bei 3 mg ist sie kaum wahrnehmbar und bei 1—2 mg gleich Null. Die Filtration ergibt bei VI wasserklare, fast eiweißfreie Flüssigkeit, die die Leimreaktion gibt. Ebenso gibt der heiße Alkoholauszug des gewaschenen Niederschlages nach der Verdunstung des Alkohols die Leimreaktion.

Ergebnis: Auch Mengen von nur 4—5 mg Tannin Merck wirken noch auf die Eiweißstoffe des Kaninchenserums fällend. Eine erhebliche Tanninspaltung scheint von diesem Serum nicht auszugehen.

Versuch 17. Merckssches Tannin, 5%iges Hammelserum, durch Zentrifugieren gewonnen. In jedem Gläschen 5 ccm Serum und 5 ccm ClNa + 0,5 mg bis 5,0 mg Tannin. Bei 1 mg und darunter erfolgt auch nach 24 Stunden weder ein Niederschlag noch auch nur eine Trübung, bei 2 mg ist er etwa 1 cm hoch und bei 5 mg 2 cm hoch. Das Filtrat und der Niederschlag von 5 mg enthalten ungespaltenes Tannin.

Ergebnis: Mengen von 1 mg Merckssches Tannin und darunter wirken auf Hammelserum nicht fällend. Eine Tanninzersetzung ist dabei selbst nach 24 Stunden nicht nachweisbar.

c. Versuche an Blutkörperchensuspensionen.

Versuch 18. Durch Zentrifugieren und 3maliges Waschen gereinigte Blutkörperchen vom Hammel, 2%ig in ClNa suspendiert; Tannin Schering. In jedem Glase 5 ccm Suspension + 5 ccm ClNa bezw. in ClNa gelöstes 0,5 mg—2,5 mg. Nach 20 Minuten sind die Gläschen mit 2,5 und 2,0 mg T. total ausgeflockt; bei den andern ist eine längere Zeit und bei 0,5 mg sechs Stunden erforderlich, ehe der Bodensatz sich fest abgesetzt hat. Um diese Zeit machen Gläschen II—VI den Eindruck der totalen Agglutination, also nicht nur der Ausflockung. Das Volumen des Agglutinates ist überall ungefähr gleich groß. Klare Filtration gelingt aber nur bei 1,0—2,5 mg. Das Filtrat dieser Gläschen enthält gar kein Eiweiß, was nicht zu verwundern ist, da ja kein Serum anwesend ist. Das Filtrat von 1 mg und von 2 mg T. gibt aber auch mit Eisenchlorid keine Färbung; es ist hier also das gesamte T. an die Blutkörperchen adsorbiert. Nun wird der Niederschlag des Gläschens mit 2 mg T. erst mit etwas ClNa gewaschen und dann mit heißem Alkohol ausgezogen. Der Verdunstungsrückstand des Alkohols wird in Wasser gelöst. Er gibt wohl Eisenchloridreaktion, aber so gut wie keine Leimreaktion.

Ergebnis: Während bei den Versuchen mit serumhaltigem Blute die Volumina der Niederschläge proportional den Gerbsäuremengen waren, sind hier die Volumina überall ziemlich gleich groß, weil ja hier die Serumfällung fehlt. Die Niederschläge sind hier fester, durchaus im Aussehen denen durch die Hämagglutinine ähnlich. Auch der Prozeß ist ja ein analoger, indem auf der Oberfläche der Hammel-Blutkörperchen dort Abrin, Ricin und Phasine, hier das Tannin sich niederschlägt. Der Zwischenflüssigkeit wird dabei das Tannin bei 0,5—2,0 mg : 10 ccm fast völlig entzogen. Wie man aus dem Agglutinat die Agglutinine wieder freimachen kann, so ist dies auch bei unserer Substanz möglich; allerdings wird das Tannin Schering nicht in unverändertem Zustande wiedergewonnen, sondern der Hauptmasse nach als Gallussäure.

Versuch 19. Fast serumfreie Kaninchenkörperchen 2%ig suspendiert; Tannin Merck. Anordnung des

Versuches wie in Nr. 18, nur sind die Mengen doppelt so groß, also 1—5 mg. Auch hier erfolgt eine Niederschlagsbildung, die wie echte Agglutination aussieht. Bei 1—2 mg ist alles T. aus der Zwischenflüssigkeit an die Blutkörperchen adsorbiert. Klare Filtration gelingt bei 1 und 2 mg nicht.

Ergebnis: Auch Kaninchenkörperchen adsorbieren 1—2 mg Merckssches Tannin aus 10 ccm Flüssigkeit total. Dadurch wird eine echter Agglutination durchaus ähnliche Niederschlagsbildung hervorgerufen.

Versuch 20. 2%ige Suspension von zentrifugierten und gewaschenen Kaninchenblutkörperchen. Tannin Merck in Mengen von 0,5—2,5 mg, je in 5 ccm ClNa suspendiert. Sonst alles wie beim vorigen Versuche. In den Gläschen mit 1,0—2,5 mg beginnt die Agglutination schon in der ersten Viertelstunde. Nach 20 Stunden findet sich in allen T.-Gläschen ein gleich geringer fest agglutinierter Bodensatz, und die Filtration ergibt bei allen ein farbloses Filtrat, nur bei den Kontrollen natürlich nicht. Das Filtrat von 0,5 mg enthält weder Tannin noch Gallussäure; bei 1 mg ist eine mit Eisenchlorid reagierende Substanz nachweisbar, wenn auch nur spärlich.

Ergebnis: Bei 0,5 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 20000 wirkt Merckssches Tannin auf serumfreie Kaninchenkörperchen noch total agglutinierend ein.

Es fragte sich jetzt, ob etwa auch eine noch kleinere Dose dieselbe Wirkung hat. Darüber entscheiden die folgenden Versuche.

Versuch 21. 1%ige Suspension von zentrifugierten und gewaschenen Kaninchenblutkörperchen, ganz serumfrei, Tannin Merck. In jedem Gläschen wie oben 10 ccm Flüssigkeit, nur sind die T.-Mengen kleiner, 0,5—0,1 mg betragend. Bei 0,5 mg nach 20 Min. totale Agglutination. Bei 0,4—0,2 mg bildet sich binnen 6 Stunden je ein Niederschlag, der durchaus agglutiniert aussieht, der aber nur noch bei 0,4 mg ein farbloses Filtrat liefert. Bei 0,1 mg ist der Bodensatz von den Kontrollen auch nach 24 Stunden nicht zu unterscheiden. In allen Gläschen ist das Tannin quantitativ an die Blutkörperchen gebunden.

Versuch 22. Alles wie in Versuch 21, nur wurden zentrifugierte und gewaschene Meerschweinchenkörperchen verwendet und nicht in 1%iger sondern in 2%iger Suspension. Auch hier erfolgt bei 0,4 mg Merckschem Tannin über Nacht totale feste Agglutination, so daß ein farbloses Filtrat erzielt wird. Bei allen Filtraten fehlt die Eisenchloridreaktion, da alles T. an die Körperchen gebunden ist.

Versuch 23. Alles wie in Versuch 21, nur werden zentrifugierte und gewaschene Hammelkörperchen verwendet. Bei 0,5 mg ist die Agglutination schon nach 15 Min. total, bei 0,4 nach 20 Min. schon weit vorgeschritten und nach 1 Stunde total. Bei kleineren Dosen gelingt es nicht mehr klares Filtrat zu bekommen. Das T. ist in allen Gläschen adsorbiert und kann den Körperchen durch heißen Alkohol wieder entzogen werden, z. T. freilich in Form von Gallussäure.

Ergebnis: Für Merckssches Tannin und serumfreie Körperchen des Kaninchens, Meerschweinchens und Hammels bildet 0,4 mg : 10 ccm d. h. **1 : 25000** die Grenze der totalen Agglutination. Unser altes Institutstannin wirkte etwas schwächer. Zur biologischen Bewertung von Tanninpräparaten ist der Blutkörperchenversuch vortrefflich brauchbar. Er muß bei guten Präparaten den genannten Wert ergeben. Diese totale Agglutination ist dem Ansehen nach und dem Filtrationsversuche nach der durch Abrin, Ricin und die Phasine durchaus analog. Die Menge des Agglutinates ist bei verschiedenen Dosen, wofern diese nur über 0,4 mg auf 10 ccm 1% Blutkörperchensuspension beträgt, ziemlich dieselbe, während bei serumhaltigem Blute sie der Dosis des Tannins entsprechend verschieden sein kann. Die Zerlegung des Agglutinates geschieht, gleichgiltig, ob serumhaltiges oder serumfreies Blut verwendet worden ist, am besten durch heißen Alkohol. Dabei ergibt sich, namentlich falls die Blutkörperchen serumfrei waren, besonders beim Scheringschen Präparate im wesentlichen statt Tannin Gallussäure. Es hat also unter Einfluß der Blutkörperchen eine hydrolytische Spaltung stattgefunden.

d. Versuche an Blutkörperchenlösungen.

Es galt jetzt die Frage zu entscheiden, ob das Tannin auch in destilliertem Wasser aufgelöste Blutkörperchen in analoger Weise niederzuschlagen imstande ist. Von vornherein ist man geneigt diese Frage dahin zu beantworten, daß die Stärke der niederschlagenden Wirkung auf Blutkörperchenlösung wohl der auf Serumlösung proportional sein werde.

Die von mir zahlreich angestellten Versuche mit serumhaltigen Blutlösungen lasse ich unerwähnt, weil sie eine Entscheidung der uns interessierenden Frage nicht verstatten. Es erfolgt eben ein sehr voluminöser Niederschlag, der Serum, Stroma und Hämoglobin einschließt. Die folgenden Versuche sind mit Ausschluß des Serums angestellt.

Versuch 24. Je 5 ccm 2%ige Lösung von Pferdeblutkörperchen in 7 Gläschen verteilt. In Glas I und VII je 5 ccm physiol. ClNa als Kontrollen; zu II—VI 10—50 mg altes Tannin, in je 5 ccm physiol. ClNa gelöst. Binnen zwei Minuten entsteht in allen T.-Gläschen ein voluminöser roter, sich bald bräunender Niederschlag, der nach 16 Stunden merkwürdiger Weise in II am größten, in VI aber am kleinsten ist. Dafür ist er in VI am kompaktesten, einen festen Klumpen darstellend. Die Farbe ist jetzt überall sepiabraun. Vor dem Spektroskop zeigt er einen Streifen in Rot, der für Methämoglobinbildung spricht. Zusatz einer Spur von Alkali löst den Niederschlag rötlich und läßt das Oxyhämoglobinspektrum auftreten. Die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit ist überall wasserklar, auch nach dem Filtrieren. Sie ist eiweißfrei. Sämtliche Niederschläge werden auf Filtern gesammelt und mit dest. Wasser gewaschen zur Entfernung des überschüssigen Tannins. Heißer Alkohol entzieht dem gewaschenen Filterrückstand aller Portionen sofort reichlich eine mit Eisenchlorid sich schwarz-blau färbende Substanz. Eben diese Substanz gibt auch intensiv die Leimreaktion. Sie ist der Hauptsache nach also als unverändertes Tannin anzusprechen.

Versuch 25. Wiederholung des vorigen, nur wird statt Pferdeblutkörperchenlösung 2%ige Katzenblutkörperchenlösung angewendet. Dosen unverändert. Ablauf des Versuches genau wie bei Nr. 24.

Versuch 26. Wiederholung der beiden vorigen, nur wird 2%ige Menschenblutkörperchenlösung verwendet, ferner wird die Lösung des alten Tannins neutralisiert. Auch hier ist der Ablauf derselbe wie bei Nr. 24. Nur insofern ist ein Unterschied, als heißer Alkohol viel weniger mit Eisenchlorid reagierende Substanz auszuziehen vermag als bei Nr. 24—25.

Ergebnis: Zweiprozentige Lösung von Pferde-, Katzen- und Menschenblutkörperchen wird von Tanninosen unseres Institutspräparates, die 10 bis 50 mg betragen, rasch total ausgefällt. Der Niederschlag hat anfangs eine rote Farbe, wird aber rasch unter Methämoglobinbildung braunrot und dann ganz sepiabraun. Er schließt alles Hämoglobin und alle Stromasubstanz ein sowie einen Teil des Fällungsmittels. Letzteres kann daraus mit Wasser nicht extrahiert werden, wohl aber leicht durch heißen Alkohol.

Die für das alte Tanninpräparat des Institutes gewonnenen Ergebnisse wurden für das Scheringsche und das Merckssche Tannin bei gleichen Dosen an Menschenblutkörperchenlösung nachgeprüft (Versuch 27 und 28) und ergaben nur insofern einen Unterschied, als das Scheringsche Präparat einen intensiver roten Niederschlag lieferte als das Institutstannin und das Merckssche. Nun wurden (Versuch 29 und 30) Dosen von 2, 4, 6, 8, 10 mg beider Präparate an der Lösung derselben Blutkörperchenart geprüft. Auch bei den kleinsten dieser Dosen erfolgte, wenn auch langsam, vollständige Ausfällung des Blutfarbstoffes, also bei 2 mg: 10 ccm d. h. bei 1:5000, und auch hier wieder war der durch Scherings Tannin erzielte Niederschlag intensiver rot als der durch Merckssches. Weiter war insofern ein Unterschied, als die Filtrate beider Reihen bei gleicher Dose gleich starke Reaktion mit Eisenchlorid gaben, aber die Leimreaktion war sowohl bei den Filtraten als den Verdampfungsrückständen der Alkoholauszüge bei dem Scheringschen Präparate geringer als bei dem Merckschen.

Ersteres scheint also auch nach diesen Versuchen wie nach den S. 22 mitgeteilten leichter in Gallussäure zu zerfallen als das Merckssche.

Weiter wurde vergleichend geprüft, ob die für Blutkörperchensuspension gefundene kleinste total agglutinierende Dose auch für die entsprechende Blutkörperchenlösung total ausfällend wirkt. Der darauf bezügliche an Meerschweinkörperchen ausgeführte Versuch 31 ergab jedoch, daß die zur totalen Ausfällung von 10ccm 1%iger Körperchenlösung nötige Dose des Tannin fünf mal größer ist als die für die Agglutination von 10 ccm 1%iger Körperchensuspension; sie beträgt für Lösung 2,0 mg und für Suspension 0,4 mg des Merckschen Präparates. Zur biologischen Bewertung von Gerbsäurepräparaten ist also eine serumfreie Körperchensuspension einer Körperchenlösung bei weitem vorzuziehen. Die relative Unempfindlichkeit der Blutkörperchenlösung macht es wahrscheinlich, daß die Wirkung auf die intakten Blutkörperchen als eine Adsorptionserscheinung aufzufassen ist, bei der das Hämoglobin, da es nirgends die Peripherie berührt, ganz unbeteiligt ist.

e. Versuche an Organzellen.

Der Umstand, daß alle Protoplasmaarten von Tannin gefällt werden, ließ es wünschenswert erscheinen, auch an anderen Zellen als an Blutkörperchen einige Versuche anzustellen. Diese mußten ferner Klarheit darüber bringen, ob die Zellenzyme tanninspaltend wirken.

Versuch 32. Milzzellen vom Rind, durch Schaben von Flächenschnitten mit stumpfem Messerrücken und Durchseien des mit physiol. ClNa stark verdünnten Breies durch Gaze gewonnen, werden so oft zur Sedimentierung gebracht und wieder mit neuen Kochsalzmengen angerührt, bis sie blutfrei sind. Vom dünnen Brei

werden je 5 ccm in 7 Gläschen gebracht und zu I und VII je 5 ccm ClNa zu den andern 10—50 mg altes Tannin, in je 5 ccm ClNa gelöst gesetzt. Nach wenigen Stunden ist in allen T.-Gläschen ein fester Klumpen von Niederschlag entstanden, während in den Kontrollgläsern die Zellen sich durch einmaliges Umkehren sofort wieder gleichmäßig suspendieren lassen. Die Klumpen der T.-Gläschen werden je auf ein Filter gebracht und erst mit ClNa gewaschen und dann mit heißem Alkohol ausgezogen. Der in Wasser gelöste Verdunstungsrückstand des Alkoholauszuges wird je in 2 Teile geteilt, von denen der eine mit Eisenchlorid, der andere mit Gelatinelösung geprüft wird. Während wenige Tropfen des einen Teiles genügen um mit verdünntem Eisenchlorid intensive Dunkelfärbung hervorzurufen, ist die Gelatinereaktion des anderen Teiles minimal.

Ergebnis: Milzzellen vom Rind werden von Tannin zu festen Klumpen, die an die Niederschläge in Blutlösungen erinnern, verklebt. Diese enthalten auch nach Waschen mit phys. ClNa noch Gerbstoff. An heißen Alkohol wird dieser leicht abgegeben, reagiert aber auf Leimlösung nur minimal. Die Hauptmenge ist also von den Milzzellen zu Gallussäure zerlegt.

Milzzellen vom Pferd in analoger Weise gewonnen und mit denselben Tannindosen versetzt (Versuch 33) ergaben eine Bestätigung des vorigen Ergebnisses. Bei Nierenzellen vom Meerschweinchen (Versuch 34) und 5—10 mg Tannin unserer Sammlung ergab sich zwar typische Klumpenbildung, aber die Umwandlung des von den Zellen adsorbierten Tannins in Gallussäure war nicht deutlich.

Versuch 35. Ein gesunder Hund von etwas über 10 kg wird durch Entbluten getötet und sein Dünndarm sofort herausgenommen, der Länge nach geöffnet, von Kot befreit, sorgfältig abgespült und sodann die ganz helle Darmschleimhaut mit dem Messerrücken abgeschabt, fein zerrieben und in 60 ccm phys. ClNa suspendiert. Durch Zusatz von Toluol bis zur Sättigung und von 60 mg Fluornatrium wird absolute Sterilität gewahrt. Das Ganze wird in 3 Teile geteilt, von denen der erste mit 50 mg, der zweite mit 100 mg und der dritte mit 150 mg altes Tannin versetzt wird. Nach gehörigem Durchschütteln werden alle drei Gefäße bei 38° in den Wärmeschrank gebracht, wo sie 24 Stunden verbleiben, ohne daß auch

nur eine Spur übler Geruch auftritt. Nun wird filtriert und die drei wasserklaren Filtrate je mit Eisenchlorid und mit Gelatinelösung geprüft. Alle drei geben selbst bei sehr starker Verdünnung prompt die Eisenreaktion, aber gar nicht die Leimreaktion.

Ergebnis: Darmschleimhautzellen des Hundes spalten bei Körpertemperatur binnen 24 Stunden sehr beträchtliche Mengen von Tannin vollständig. Es war von vornherein zu vermuten, daß die Darmzellen die Tanninspaltung am besten ausführen würden, weil sie ja auch bei innerlichem Eingeben von Tannin diese Spaltung quantitativ ausführen. Alle meine andern Versuche sind ohne Wärmeschrank ausgeführt; sie sollen in unserm Institute unter gleichen Bedingungen wie dieser Darmversuch wiederholt und variiert werden. Es unterliegt wohl kaum einem Zweifel, daß z. B. Leberzellen das Tannin ebenfalls sehr rasch und stark in der Wärme spalten werden. Diese Versuche alle selbst auszuführen lag der mir gestellten Aufgabe zu fern; mir genügt es, dazu Anregung gegeben zu haben.

IV. Über Neradol D.

1. Einige orientierende Angaben.

In den Kreisen der Gerber hat in letzter Zeit das Auftauchen künstlicher Gerbmittel, die billig genug sind praktisch verwertet zu werden, außerordentliches Aufsehen gemacht. Fallen doch noch jetzt allein in Frankreich jährlich 14000 ha Kastanienwald der Verarbeitung auf Gerbstoffe zum Opfer. Dies alles wird wegfallen, wenn die künstlichen Gerbmittel, zu denen die Fischerschen (vergl. S. 12) allerdings zunächst noch nicht gehören, die natürlichen zu ersetzen vermögen. Das Hauptverdienst auf diesem Gebiete gebührt Edm. Stiasny[1]). Durch Einwirkung von Formaldehyd auf

[1]) E. Stiasny, Collegium 1913, S. 139, 165, 320, 429: Journ. Soc. Chem., Bd. **32**, 1913, S. 775; Z. f. angew. Chem. **26**, II, S. 487 u. 527.

Phenole, bei Anwesenheit von Schwefelsäure, entsteht, wie schon S. 13 gesagt wurde, ein teigförmiges Kondensationsprodukt, welches nach dem Neutralisieren der freien Mineralsäure eine dunkle dickliche Flüssigkeit bildet. Stiasny, der diese Substanzen erfunden hat, nannte sie Syntane. Ein wichtiges Glied dieser Gruppe, deren Darstellung die Badische Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen übernommen hat, ist der von letzterer unter dem Namen Neradol D in den Handel gebrachte Stoff. Das Neradol D ist leichtlöslich in Wasser, und diese Lösung gibt die meisten Gerbstoffreaktionen, namentlich mit Eisenoxydsalzen eine blauschwarze Färbung sowie mit Leimlösungen Fällungen. Dagegen gibt Neradol D im Gegensatz zu den meisten pflanzlichen Gerbstoffen auch die Procter-Hirstsche Reaktion d. h. Fällung mit Anilin und Salzsäure. Bleiacetat gibt mit Neradollösungen nur einen schwachen Niederschlag, Bleiessig aber einen starken. Chlorbaryum gibt eine langsam sich bildende Fällung, die beim Erhitzen schwindet und beim Abkühlen wiederkehrt. Freie Schwefelsäure oder Sulfate sind im Handelspräparat also nicht vorhanden. Bromwasser gibt keinen Niederschlag, wodurch die Anwesenheit von freiem Kresol ausgeschlossen wird. Millons Reagens gibt beim Kochen intensive Rotfärbung, was auf freies oder gebundenes Kresol schließen läßt. Neßlers Reagens gibt beim Kochen einen Niederschlag von grauer Farbe. Ferd. Mayers Reagens, Esbachs Reagens und Jodlösungen geben keine Niederschläge; ebensowenig gibt Kupfersulfat einen solchen. Konz. Salzsäure gibt einen grauen Niederschlag. Konz. Schwefelsäure färbt selbst Spuren des möglichst wasserfreien Neradol D prachtvoll kirschrot; größere Mengen werden in einen kirschroten Niederschlag verwandelt, der sich weder in Äther noch in Chloroform noch in Alkohol noch in Wasser löst. Kilianis Reagens (vergl. oben

S. 10) ist wenig brauchbar. Versetzt man mindestens 5%ige Lösungen von Neradol D mit einigen Körnchen von Ferricyankalium oder Ferrocyankalium, so färben sie sich grasgrün. Versetzt man diese jetzt mit einem Tropfen Natronlauge, so werden sie prachtvoll kirschrot. Während die grüne Farbenreaktion konzentriertere Neradollösungen erfordert, tritt die Kirschrotfärbung mit Ferricyankalium und Natronlauge auch bei 1%igem, ja selbst bei 0,2%igem Neradol D noch ein. Vor dem Spektroskop sieht man einen Absorptionsstreifen, der das Gelb und den ersten Teil des Grün verdunkelt. Diese wie die vorhergehenden Reaktionen sind von Prof. Kobert gefunden. Namentlich die letztere ist recht brauchbar. Auch auf Zusatz von Kaliumdichromat und Natronlauge tritt eine Rotfärbung ein, sie ist aber weniger charakteristisch. Eindunsten bei 100° zersetzt das Neradol D. Über die Zusammensetzung des im Neradol D steckende Kondensationsproduktes wird zurzeit noch gestritten. Weiteres lasse ich, da es für uns hier ohne Belang ist, unbesprochen. Nur bedarf der Erwähnung, daß das von der Badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen gelieferte Präparat außer dem Gerbstoff und Wasser noch andere Stoffe enthält, die bei Berechnung des Wirkungswertes als Gerbmittel abgezogen werden müssen. Wir fanden 49,9% Wasser. Auch so ist das Präparat immer noch recht dicklich, so daß es wasserärmer nicht gut verwendet werden kann. Man kommt der Wahrheit wohl ziemlich nahe, wenn man den Gerbgehalt nicht auf 50% sondern nur auf ein Drittel des Präparates berechnet. Das Neradol D liefert semikolloide Lösungen. G. Graßer[1]) hebt als Vorzug des Neradols hervor, daß es Phlobaphene (vergl. über diese S. 9) löst. Die Haut wird durch Neradol D in ein

[1]) G. Graßer, Collegium 1913, S. 478.

rein weißes Leder übergeführt. Das Neradol D ist sowohl als Selbstgerbstoff als auch besonders zum Angerben oder in Gemisch mit Gerbextrakten verwendbar.[1]) Naturgemäß haben die Freunde der vegetabilischen Gerbung das Neradol D als unbrauchbar hinzustellen versucht. Unter diesen nenne ich W. Moeller[2]). Seine Experimente laufen darauf hinaus, die Güte der Gerbwirkung des neuen Mittels anzuzweifeln. Ja man geht so weit, zu behaupten, es gerbe die Haut nicht nur nicht, sondern löse sie auf. Auf der letzten Jahresversammlung der Deutschen Sektion des Internationalen Vereins der Lederindustriechemiker erklärte derselbe W. Moeller[3]), ihm seien nicht nur Fälle mitgeteilt worden, in welchen die Haltbarkeit von Neradolleder eine sehr geringe war, sondern daß ihm sei sogar ein Fall bekannt, in welchem bei Schuhen, deren Leder mit Neradol gegerbt worden war, die zum Nähen verwandten Fäden vollständig zerfressen wurden, was ja natürlich auf Gehalt des Präparates an freier Schwefelsäure schließen lassen würde. Natürlich war Stiasny[4]) in der Lage diese Behauptungen meist sachlich zu widerlegen. Eitner[5]) spricht sich dahin aus, das Neradol D sei theoretisch betrachtet zwar kein eigentlicher Gerbstoff im strengsten Sinne, in praxi sei es aber zum mindesten zum Angerben, zur gemischten Gerbung und zum Aufhellen dunkler Leder brauchbar. Das sehr objektiv gehaltene kritische Referat von W. Fahrion[6]) über die

---

[1]) Vergl. H. Dierdorf, Collegium 1913, S. 366.

[2]) W. Moeller, Collegium 1913, S. 487 und 593.

[3]) W. Moeller, Z. f. angew. Chemie, Jg. **27**, 1914, S. 605 des wissenschaftlichen Teiles.

[4]) E. Stiasny, ebenda 1913, S. 528 und 597.

[5]) Eitner, ebenda 1913, S. 441.

[6]) W. Fahrion, Zeitschr. f. angew. Chem. Aufsatzteil, Jg. **27**, Bd. I, 1914, S. 461.

ganze Frage tritt dieser Ansicht bei. Daß sich, nachdem Stiasny einmal den Weg in das Dunkel künstlicher billiger Gerbstoffe gezeigt hat, bald eine ganze Anzahl solcher Stoffe finden werden, ist selbstverständlich. Einige solche hat die genannte Fabrik bereits angekündigt. Gerade deshalb scheint mir meine Versuchsreihe über das Neradol D recht zeitgemäß, denn man wird an der Hand dieser Versuche auch alle Konkurrenzpräparate zu bewerten imstande sein.

2. Eigene Versuche mit Neradol.

Da das uns übersandte Neradol D sauer reagiert, so ist es zu den meisten Versuchen auch so verwendet worden; zu anderen wurde es neutralisiert und zwar unter Anwendung von Lackmus als Indikator. Während bei Tannin die Ergebnisse, welche das neutralisierte Präparat lieferte, mit den vom unneutralisiert verwendeten übereinstimmen, war beim Neradol D ein sehr wesentlicher Unterschied zu beobachten, je nachdem ich das saure oder das neutrale Präparat verwendete.

Ich habe eine Reihe Versuche an Blut der verschiedensten Tiere (Kalb, Schwein, Kaninchen, Hund) und an dem des Menschen in der Weise angestellt, daß ich das serumhaltige defibrinierte Blut mit physiol. Kochsalzlösung 20–50 mal verdünnte und in Mengen von je 5 ccm in Gläschen goß, zu denen dann noch je 5 ccm Neradolkochsalzlösung, nicht neutralisiert, zugesetzt wurde. Falls die Neradolmengen 50—100 mg, berechnet auf Trockensubstanz, betrugen (Versuch 36–46), erfolgte ein sehr voluminöser Niederschlag, der bald eine unschöne graubraune Farbe annahm, sich allmählich zu einem Klumpen ballte und ein farbloses Filtrat lieferte, das schon bei 20 mg Substanz intensiv die Eisenchloridreaktion, aber bei 15 bis 20 mg so gut wie nicht die Leimreaktion

gab. Während ich beim Tannin annahm, daß das Blut spaltend darauf einwirkt, bin ich hier in Verlegenheit, das Schwinden der Leimreaktion zu erklären. Ich kann eben nur die Tatsache des Schwundes dieser Reaktion bei zur Fällung gerade hinreichender Dose konstatieren. Der Neradolniederschlag löste sich bei 15 mg, wenn er bald untersucht wurde, in dest. Wasser bei Zusatz eines Tropfens Natriumkarbonat zu Oxyhämoglobin.

Ein Versuch mit 5%iger Hundeblutlösung (47) und denselben Dosen von nicht neutralisiertem Neradol ergab ganz dasselbe.

Es folgten Versuch 48—49 an gewaschenen in Kochsalzlösung 5%ig suspendierten Körperchen des Menschen und des Hahnes. Bei Dosen von 15 bis 50 mg des nicht neutralisierten Präparates, berechnet auf Trockensubstanz, erfolgte feste Agglutination und bei 15 mg Schwund der Leimreaktion des farblosen Filtrates. Es sind also wie beim Tannin besonders die Blutkörperchen, denen die Fähigkeit zukommt, die Leimreaktion aufzuheben. (Über Serumversuche wird später geredet werden.) Die auf dem Filter sofort gesammelten und gewaschenen Niederschläge zeigten bei 20—50 mg in Wasser suspendiert nur sehr undeutliche Spektra. Das Gläschen mit 50 mg zeigte ein dem Methämoglobin verwandtes oder damit identisches Spektrum. Zusatz eines Tropfens Natrium Karbonat löste diesen Niederschlag sofort mit roter Farbe und wandelte das Absorptionsspektrum in das des Oxyhämoglobin um.

Es lag uns jetzt daran, die Wirkung kleinerer Dosen des nicht neutralisierten Neradols zu studieren. Ich benutzte dazu wie in den oben besprochenen zwei Versuchen gewaschene Blutkörperchen und zwar immer in 2%iger Suspension.

Versuch 50. 2%ige Kaninchenkörperchensuspension, je 5 ccm; die nicht neutralisierte Neradollösung in physiol. ClNa enthält in jedem ccm 5 mg Trockensubstanz.

I.	5 ccm Susp.	+	5 ccm	ClNa	als erste Kontrolle.
II.	„ „	+	„	enth.	5 mg Neradol
III.	„ „	+	„	„	10 mg „
IV.	„ „	+	„	„	15 mg „
V.	„ „	+	„	„	20 mg „
VI.	„ „	+	„	„	25 mg „
VII.	„ „	+	„	ClNa	als zweite Kontrolle.

Während die beiden Kontrollen in bekannter Weise langsam die Körperchen unverklebt zu Boden fallen lassen und darüber farblose Flüssigkeit zeigen, erfolgt in II sofort Ausflockung, die aber sehr bald in totale Hämolyse übergeht. Die ganze Flüssigkeit wird dabei klar rot und zeigt Oxyhämoglobinstreifen. Glas III und IV zeigte ganz im Gegensatz dazu rasch eintretende totale Agglutination, die eine Filtration mit farblosem Filtrat und rötlichem Filterrückstand ergibt. Dieser löst sich in dest. Wasser bei Zusatz eines Tropfens Natriumkarbonat mit rein roter Farbe und zeigt Oxyhämoglobinstreifen. In Glas V und VI erfolgt sofort braune Verfärbung, aber das Spektroskop zeigt bei Zusatz von Natriumkarbonat nach Auftreten von Rötung Oxyhämoglobinstreifen. Bei Wiederholung des Versuches und ruhigem Stehen dieser Gläschen klumpt sich der Inhalt beider langsam am Boden zusammen; Filtration liefert ein wasserklares Filtrat und einen mißfarbigen braungrauen Niederschlag auf dem Filter, der aber ebenfalls mit Alkali sich in Oxyhämoglobin umwandeln läßt.

Ergebnis: Je nach der Dose ist die Wirkung des nicht neutralisierten Neradols auf gewaschene Kaninchenkörperchen eine ganz verschiedene. Bei 5 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 2000, berechnet auf Trockensubstanz, erfolgt totale Hämolyse ohne irgend welche Veränderung des Hämoglobins. Bei 10 mg : 10 ccm d. h. 1 : 1000 und bei 15 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 666 erfolgt totale Agglutination ohne Verfärbung; das Agglutinat läßt sich in Wasser bei Zusatz einer Spur Alkali zu Oxyhämoglobin lösen. Bei 20 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 500 und bei 25 mg : 10 ccm d. h. bei 1 : 400 wird das Hämoglobin in eine dem Hämatin ähnlich aussehende Masse umgewandelt und in dieser Form zugleich mit den Eiweißstoffen der Blutkörperchen niedergeschlagen

Alkali färbt es aber wieder rot und löst es wenigstens z. T. zu Oxyhämoglobin. Mit der Wirkung des Tannins sind also nur die bei 1:1000—1:666 auftretenden Veränderungen analog; sowohl kleinere als größere Dosen wirken ganz anders.

Wie zu erwarten war, sind die zur Erzielung solcher Wirkungen nötigen Dosen für verschiedene Blutkörperchenarten verschieden. Ich prüfte in Versuch 51—52 die weitaus widerstandsfähigsten, nämlich die des Hammels. In jedem Gläschen befanden sich je 5 ccm der 2%igen Suspension, also ganz wie in Versuch 50. Die geprüften Neradoldosen, immer in 5 ccm physiol. Kochsalzlösung enthalten, betrugen 2,5—150 mg, berechnet auf Trockensubstanz. Bei 2,5 mg : 10 ccm d. h. bei 1:4000 erfolgte binnen 26 Minuten totale Hämolyse. Bei 5 mg, also bei 1:2000, erfolgte nach 2 Min. totale Hämolyse und bei 10 mg d. h. bei 1:1000 erfolgte sofort erst Hämolyse, aber alsdann dasselbe wie bei 20 mg. Bei 20 mg d. h. bei 1:5000 erfolgte gar keine Hämolyse, sondern primär totale Niederreißung des grau verfärbten Blutfarbstoffes der zerstörten Blutkörperchen. Nach 16 Stunden stand über dem voluminösen Niederschlag eine farblose Flüssigkeit, die wohl mit Eisenchlorid, aber nicht mit Leim eine Reaktion gab. Bei 30 mg spielte sich der ganze Prozeß in einer Stunde und bei 50 mg binnen 2 Min. ab. Auch bei diesen beiden Proben gab das wasserklare Filtrat keine Leimreaktion, während an sich schon 1 mg Neradol mit Leim reagiert. Die grauen Bodensätze aller Gläschen lösten sich nach dem Waschen mit Wasser bei Zusatz einiger Tropfen Natrium-Karbonatlösung auf, bekamen eine rötliche Farbe und zeigten, wenn auch schwach, Oxyhämoglobinspektrum. Echte Hämatinbildung war also auch bei Hammelblut nicht nachweisbar. Selbst als wir bis 150 mg in die Höhe gingen,

ließ sich der entstandene graue Niederschlag sofort nach dem Waschen mit Hilfe von Alkali leicht in Oxyhämoglobin wenigstens teilweise zurückverwandeln.

Vier weitere Versuche hatten den Zweck, die kleinste noch irgend wie wirksame Dose des nicht neutralisierten Neradols zu bestimmen. Wir fanden am widerstandsfähigsten Kaninchenkörperchen (Versuch 53); dann folgen Katzenkörperchen (Versuch 54), dann Hammelkörperchen (Versuch 55). Die kleinste binnen 24 Stunden gerade noch wirksame Dose für Kaninchenblutkörperchen und Katzenkörperchen ist 2 mg und für Hammelkörperchen 1 mg Trockensubstanz auf 10 ccm, während für Meerschweinchenkörperchen (Versuch 50) noch 0,5 mg totale Hämolyse hervorriefen. Zwischen diesen Grenzen d. h. zwischen 0,5 mg : 10 ccm und 2,0 mg : 10 ccm dürfte die Empfindlichkeit fast aller Blutkörperchenarten liegen. Auf Trockensubstanz berechnet beträgt also die Stärke der hämolytischen Wirkung des Neradols

für Kaninchen- und Katzenblutkörperchen **1 : 5000**,
für Hammelblutkörperchen **1 : 10 000**,
für Meerschweinblutkörperchen **1 : 20 000**.

Berechnet auf den im Neradol enthaltenen Gerbstoff lauten diese Werte noch günstiger, nämlich 1 : 7500, 1 : 15 000 und 1 : 30 000. Dies sind hämolytische Werte, die uns berechtigen, die Neradole, die ja wohl alle ähnlich wirken werden, den Saponinen und Sapogeninen an die Seite zu setzen. Von den Sapogeninen hat das von Wil. Laube[1]) in unserem Institute untersuchte Saponalbinsapogenin

[1]) W. Laue, Beiträge z. Kenntnis der Wirkung einiger Sapogenine und der zugehörigen Saponine auf as Blut. Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. **10**, 1912.

mit unserm Neradol auch weiter die Eigenschaft gemein, daß bei größeren Dosen die hämolytische Wirkung in Agglutination umschlägt.

Über die Wirkung des neutralisierten Neradols kann ich mich kurz fassen. Gleich die ersten darüber angestellten zwei Versuche an Kaninchenkörperchen gaben genügende Aufklärung. Bei großen Dosen von 50—150 mg Trockensubstanz (Versuch 57) erfolgte sofort totale Hämolyse unter Fortdauer des Oxyhämoglobinspektrums und bei kleinen (Versuch 58) bis hinunter zu 0,5 mg binnen 24 Stunden ebenfalls noch totale Hämolyse. Das neutralisierte Neradol ist also den Saponinen noch weit ähnlicher als das nicht neutralisierte, denn es wirkte auf die isolierten Kaninchenkörperchen noch viermal stärker als das saure.

Über das Verhalten des Neradols zu 5%igem Serum des Kaninchen- und Hammelblutes gaben Versuch 59—60 Aufschluß. Im neutralisierten Zustande wirkt es auf beide Serumarten gar nicht und im nicht neutralisierten erst bei Dosen von 5 mg ab aufwärts; diese rufen einen weißen Niederschlag hervor, aber in viel geringerem Grade als dieselben Dosen Tannin. Auf unverdünntes Serum einer Katze (Versuch 61) wirkte 0,5% Neradol erst bei gleichem Volumen fällend ein. Die eiweißfällende Kraft des Neradols ist also viel geringer als die des Tannins.

Anhangsweis sei es mir verstattet noch über die Wirkungen des neutralisierten Neradols auf lebende Tiere zu berichten. Einspritzung von 10 mg in den Lymphsack bei Fröschen (Eskulenten) mittlerer Größe hatte in Versuch 62—63 nicht die geringste Wirkung. Ebenso blieben in Versuch 64—65 200—400 mg Neradol, auf Trockensubstanz berechnet, subkutan eingespritzt auf kleine Kaninchen, ganz wirkungslos. Neradol ist also ein recht schwaches Gift. Wesentlich

größere Dosen lähmten die Frösche nach vorausgehenden Zuckungen. Im Harn der Kaninchen war eine dem Neradol verwandte Substanz, die durch Blei ausfällbar war, enthalten. Da Fische gegen Zusatz von Saponinen zu dem Wasser, in dem sie leben, sehr empfindlich sind, wurden analoge Versuche mit neutralisiertem Neradol an Aalen gemacht. Während eine Konzentration der Saponine von 1 : 100 000—1 : 200 000 die meisten Fische binnen 24 Stunden umbringt, war dies hier nicht der Fall. Um die Tiere binnen 24 Stunden zu töten, mußte auf 1 : 5000 gestiegen werden, und um sie binnen 6 Stunden zu töten, sogar auf 1 : 1500, berechnet auf Trockensubstanz. Abwässer der Neradolgerbereien dürften im neutralisierten Zustand also für die Fische der Wasserläufe außerordentlich viel ungefährlicher sein als z. B. die — bekanntlich saponinhaltigen — Abwässer der Zuckerfabriken.

V. Über Eichenrindengerbsäure.

1. Einige orientierende Vorbemerkungen.

Jahrzehntelang hielt man die Eichenrindengerbsäure für identisch mit dem Galläpfeltannin. Jetzt ist diese Vorstellung völlig aufgegeben. Was sie aber ist, darüber herrscht noch keine Übereinstimmung. Nach einigen ist sie ein Glykosid, während andere wie Etti und Löwe die Glykosidnatur aufs energischste bestreiten. Nierenstein[1]) unterscheidet eine Eichenholzgerbsäure $C_{15}H_{12}O_9 + 2H_2O$ und eine Eichenrindengerbsäure $C_{17}H_{16}O_9$. Über die Formel von Etti siehe S. 10, während Löwe $C_{11}H_{11}O_7$ und Böttinger $C_{19}H_{16}O_{10}$ als Formel annimmt. In der Eichenrinde findet sich unsere Säure

[1]) M. Nierenstein, Chemie der Gerbstoffe (Stuttgart 1910), S. 32.

neben Ellagsäure, Gallussäure und Eichenrot Bei der Darstellung geht man am besten von der Eichenlohe aus, die man durch Äther von der Gallussäure befreit und dann mit Alkohol erschöpft. Den Verdampfungsrückstand des Alkohol reinigt man mit Äther von Resten der Gallussäure, der Fette, der Phytosterine etc. und löst dann mit Wasser die Gerbsäure, während das Phlobaphen darin unlöslich ist. Sie bildet ein rotgelbes Pulver, welches in kaltem Wasser recht schwer löslich ist; dagegen löst sie sich sehr leicht in verdünntem Alkohol. Beim Kochen mit verdünnten Säuren zerfällt sie nach Böttinger in Zucker und Eichenrot. Nach anderen ist sie das Anhydrid einer Gallussäure, in der noch 3 Hydroxylwasserstoffe durch Methyl ersetzt sind. Nierenstein (l. c.) rechnet sie zu den Pyrokatecholgerbstoffen. Wir selbst haben zu unsern Versuchen zuerst frisch hergestelltes Eichenrindendekokt, später frisch unter Kochen hergestellte Lösung von Merckscher Eichenrindengerbsäure benutzt. Statt Wasser wurde in beiden Fällen physiol. Kochsalzlösung verwendet.

2. Eigene Versuche.

Die Versuche mit dem Dekokt der Eichenrinde erinnern sehr an die mit Tanninlösung. Ich gebe sie, da sie ganz analog jenen angestellt wurden, nur im Auszuge wieder.

Versuch 66. In jedem Gläschen 5 ccm 2%iges Menschenblut der Placenta und 5 ccm physiol. ClNa, enthaltend 1—5 ccm des 10%igen Eichenrindendekoktes, natürlich ohne Neutralisation. Entsprechend den Dekoktmengen entstehen braunrote Niederschläge von steigendem Volumen, die sich gut filtrieren lassen und Hb-freie Filtrate liefern. Das mit 1 ccm Dekokt gibt nur sehr schwache Eisenreaktion, da fast aller Gerbstoff im Niederschlag steckt. Alle Niederschläge lösen sich, obwohl sie nach kurzer Zeit mißfarbig werden, nachdem sie gewaschen sind, in dest. Wasser bei Zusatz von Natriumkarbonat leicht zu einer hellroten Flüssigkeit mit O_2Hb-Spektrum.

Versuch 67 wird an Rinderblut und Versuch 68 an Igelblut analog angestellt und verläuft ebenso.

Ergebnis: Serumhaltiges Menschen-, Rinder- und Igelblut wird von 10%igem Eichenrindendekokt als voluminöser braunroter Niederschlag gefällt, der auf dem Filter auswaschbar ist und Gerbstoff enthält. Verdünnte Alkalien machen daraus unzersetztes Oxyhämoglobin frei.

Die folgenden zwei Versuche (69—70) bezogen sich auf in dest. Wasser 5% gelöstes Schweine- und Hammelblut. Das Dekokt war diesmal nur 5%ig. 5 ccm davon waren nötig, um aus 5 ccm der Blutlösungen den Blutfarbstoff total auszufällen. Dieser Niederschlag war sehr voluminös, wurde aber sehr rasch mißfarbig. Er ließ sich auf dem Filter auswaschen und gab dabei an Wasser die gebundene Gerbsäure z. T. ab, aber nicht vollständig, da beim Nachwaschen mit heißem Alkohol, der einen Tropfen Salzsäure enthielt, sich noch weitere mit Eisenchlorid sich bläuende Substanz löste. Damit ist bewiesen, daß die Niederschläge auch hier, d. h. wo die Blutkörperchen durch destilliertes Wasser zerstört worden waren, adsorbierte oder chemisch gebundene Gerbsäure bezw. eine mit Eisenchlorid wie Gerbsäure reagierende Substanz enthalten. Ob eine Umwandlung der Eichengerbsäure durch zelluläre Gebilde vorkommt, darüber werde ich erst am Ende des Kapitels sprechen.

Für Versuch 71—78 wurden Blutkörperchen von Kaninchen-, Rinder- und Menschenblut, 5%ig in physiol. Kochsalzlösung suspendiert, verwendet. Das 10%ige Eichenrindendekokt veranlaßte auch hier trotz Fehlen des Serums in Mengen von 1—5 ccm voluminöse Niederschläge, die aus ausgeflockten Körperchen bestanden und sich quantitativ auf Filtern sammeln ließen. Das Volumen dieser braunen Niederschläge war bei

1—3 ccm Dekokt ein steigendes, bei 3—5 ccm aber ziemlich gleich groß. Alle 5 Niederschläge ließen sich nach dem Auswaschen sehr leicht in schwach alkalischem Wasser lösen und zeigten Oxyhämoglobinstreifen.

In Versuch 74, der mit 5%iger Schweineblutkörperchensuspension angestellt wurde, handelte es sich darum, den durch 1—5 ccm des 5%igen Eichenrindendekoktes erzielten Niederschlägen nach kurzem Auswaschen mit physiol. Kochsalzlösung die gebundene Gerbsäure wieder zu entziehen. Es gelang dies wie schon in Versuch 69—70 durch heißen Alkohol, dem einige Tropfen Salzsäure zugesetzt worden waren. Wurde jedoch das Auswaschen mit Kochsalzlösung energisch fortgesetzt, so blieb von der fixierten Gerbsäure nur sehr wenig im Niederschlag. Insofern besteht also ein Unterschied gegenüber dem Tannin.

Die folgenden Versuche wurden nicht mehr mit Eichenrindenabkochung, sondern mit Lösung der von der Firma E. Merck für uns hergestellten Eichenrindengerbsäure angestellt. Die Lösungen wurden unter Kochen hergestellt und waren 0,05%ig bis 1%ig. Die 1%ige Lösung ließ stets beim Abkühlen die Hauptmenge des Gerbstoffes wieder ausfallen und wurde daher bald verworfen. Als Lösungsmittel diente immer physiologische Kochsalzlösung. Im neutralisierten Zustande hatten die genannten Lösungen im Gegensatz zum Tannin gar keine Wirkungen auf Suspensionen von Blut vom Menschen und vom Rind (Versuch 75—76), im nicht neutralisierten aber wohl. Im letzteren Falle entstanden sofort schön rote Fällungen, die durchaus an die durch Tannin erinnerten. Erst nach einigen Stunden trat an Stelle der roten Farbe eine braune.

In Versuch 77 und 78, die sich auf 2%ige Suspension von dreimal gewaschenen Hammelblut-

körperchen und Kaninchenblutkörperchen bezogen, wurden möglichst kleine Mengen von freier Gerbsäure angewandt. Eine hämolytische Wirkung wie bei kleinen Dosen Neradol trat nicht ein. Bei 2 mg der frisch gelösten Säure in 10 ccm Volumen erfolgte innerhalb 2 Stunden bei beiden Blutkörperchenarten totale feste Agglutination. Bei 1 mg:10 ccm erfolgte sie nach 5 Stunden und bei 0,5 mg: 10 ccm war nach 16 Stunden die Agglutination aller Blutkörperchen vollendet, also bei einer Konzentration von **1:20000**. Hatte die Gerbsäurelösung einige Tage gestanden, so enthielt sie auch bei der Konzentration 0,1:200,0 und bei völliger Sterilität einen Bodensatz und wirkte nur noch 1:5000 auf die Blutkörperchen. Das Aussehen des Agglutinats war von dem durch Ricin, Abrin und die Phasine erzielbaren stets gar nicht zu unterscheiden.

Versuch 79 ergab für Meerschweinchenblutkörperchen ebenfalls **1:20000** als Grenze der Wirkung für frisch gelöste Eichenrindengerbsäure.

Versuch 80 und 81 suchten die unterste Grenze der Wirksamkeit für 2%ige Suspension von nicht zentrifugiertem Menschenblut zu bestimmen. In beiden Versuchen ergaben 5 ccm der Suspension mit 5 ccm physiol. Kochsalzlösung, die 0,5 mg frisch gelöste Gerbsäure enthielten, nur partielle Agglutination, während 1,0 mg nach 24 Stunden total wirkte. Für serumhaltiges Menschen- und Kaninchenblut wie wohl für alle Blutarten fällt die agglutinierende Wirkung der Eichenrindengerbsäure naturgemäß etwas schwächer aus; sie hat für Menschenblut bei 1:10000 und für Kaninchenblut bei 1:5000 ihre Grenze. Noch unempfindlicher sind Lösungen von Blutkörperchen oder gar von serumhaltigem Blute. In Versuch 82 erwies sich für 1%ige Lösung von Hundeblut-

körperchen die Konzentration von 3 mg : 10 ccm d. h. von 1 : 3333 als nötig, um über Nacht einen filtrierbaren Niederschlag zu erzeugen. Versuch 83 zeigte, daß 5 ccm 5%iges Kaninchenserum einen Zusatz von 5 ccm physiol. Kochsalzlösung, die 4 mg Eichengerbsäure enthalten, nötig haben, um das Eiweiß der Hauptsache nach auszufällen. Für 50%iges Kaninchenserum und für unverdünntes Katzenserum (Versuch 84) waren natürlich viel, viel größere Dosen derselben Gerbsäure erforderlich, um entsprechende Fällungen hervorzurufen. Mengen von 4 mg Gerbsäure wirkten auf 5 ccm der genannten Sera noch gar nicht ein.

Zum Schluß seien noch einige Versuche mit Organzellenbrei erwähnt. In Versuch 85 wurden gut gewaschene, durch Toluol- und Fluornatriumzusatz steril gehaltene isolierte Schleimhautzellen des Katzendünndarms in Mengen von je 5 ccm Suspension mit je 5 ccm physiol. Kochsalzlösung versetzt, die 1—5 ccm 5%iges steriles Eichenrindendekokt enthielt. Es bildete sich in allen Gläschen sehr rasch ein voluminöser Niederschlag aus, der viel kompakter war als in den Kontrollgläschen und an Menge und Konsistenz mit der Gerbsäuredosis zunahm. Nach 24stündigem Stehen nicht etwa im Brüteschrank sondern nur bei Zimmertemperatur gab weder das wasserklare Filtrat der 5 Gläschen noch der Verdunstungsrückstand des salzsauren Alkoholauszuges der Koagula auf den Filtern auch nur eine Spur von Leimreaktion, wohl aber gaben beide Reihen die Eisenchloridreaktion. Darmzellen wandeln also nicht nur Tannin sondern auch Eichenrindengerbsäure quantitativ in eine Substanz um, der die Leimreaktion abgeht.

Versuch 86 bezog sich auf Nierenzellenbrei und Versuch 87 auf Leberzellbrei der Katze.

Die ganze Anordnung war analog. Auch hier traten den Dekoktmengen der Eichenrinde entsprechende Fällungen ein, und auch hier ging namentlich bei den Leberzellen binnen 24 Stunden die Leimreaktion wesentlich zurück. Bei den Niederschlägen mit Blut hatten die Fällungen offenbar ebenfalls eine gerbsäureumwandelnde Kraft, nur war sie hier viel geringer als bei den Organzellen.

VI. Über einige andere Gerbstoffe.

1. Unter dem Namen **Eutannin** kommt ein Gerbstoff in den Handel, der im Magen unlöslich sein und erst im Darm sich unter Gerbsäureabspaltung lösen soll, Thoms fand das Präparat identisch mit **Chebulinsäure** $C_{28}H_{24}O_{19}+H_2O$ d. h. dem Gerbstoff der Myrobalanen. Es ist ein kristallinisches helles Pulver, in Wasser in der Kälte nur sehr wenig löslich. Das uns zur Verfügung stehende Präparat war von Vogtenberger u. Foehr bezogen und von uns mehrmals umkristallisiert worden. Es wurde heiß in physiol. Kochsalzlösung gelöst und ohne Neutralisation frisch verwendet. Es wurde in Versuch 88 und 89 an 2%iger Rinder- und Ziegenblutsuspension geprüft und gab in Mengen von 10—50 mg bei 10 ccm Volumen voluminöse ziegelrote Niederschläge, die den durch Tannin hervorgerufenen recht ähnlich waren, bei 30—50 mg aber sehr feste Klumpen bildeten. Sie ließen sich auf dem Filter gut auswaschen. Teile davon in Wasser suspendiert lösten sich mit einer Spur kohlensaurem Natrium zu einer hellroten Flüssigkeit, die Oxyhämoglobinstreifen zeigte. Nach dem Schwund der Eisenchloridreaktion im Filtrat vermochte heißer, mit einem Tropfen Salzsäure versetzter Alkohol aus den Niederschlägen von neuem eine Substanz in Lösung zu bringen, deren Verdampfungsrückstand intensiv mit Eisenchlorid, aber in

den Gläschen mit 10—30 mg nur spurweise mit Gelatinelösung Reaktion gab. In Versuch 90 hoben Dünndarmzellen des Hundes bei Anwesenheit von Toluol binnen 16 Stunden die Leimreaktion der Flüssigkeit und des Niederschlages völlig auf und zwar selbst in den mit 50 mg versetzten Gläschen.

Im großen und ganzen verhält sich also Eutannin dem Tannin recht ähnlich.

2. Die **Gerbsäure der Granatrinde** wurde in Form eines 5%igen Dekoktes der Rinde in Versuch 91 an 2%iger Hundeblutsuspension geprüft. Mengen von 1—5 ccm dieses Dekoktes lieferten voluminöse, in kohlensaurem Natron mit roter Farbe und Oxyhämoglobinspektrum lösliche Niederschläge und ein farbloses Filtrat. Den ausgewaschenen Niederschlägen konnte durch heißen Alkohol eine Substanz entzogen werden, deren Verdunstungsrückstand Eisenchloridreaktion gab, während die Leimreaktion recht schwach ausfiel. Darmschleimhautzellenbrei vom Hund (Versuch 92) lieferte mit dem Dekokt voluminöse Niederschläge, hob aber über Nacht die Leimreaktion sowohl der klaren Flüssigkeit als der Niederschläge auf. Ein analoges Ergebnis lieferten in Versuch 93 Leberzellen vom Hund.

Also auch Granatrindengerbsäure verhält sich dem Tannin recht ähnlich.

3. Ein von Alkaloiden freies **Präparat aus Arecanüssen,** welches im wesentlichen nur den Gerbstoff und Farbstoff dieser Droge enthielt, stand mir in Gestalt eines braunen Pulvers zur Verfügung. Es war von Dr. Kurt Dragendorff gütigst für uns hergestellt worden. Es wirkte in Versuch 94 in Mengen von 1—5 ccm der 1%igen Lösung auf 2%ige Pferdeblutkörperchensuspension agglutinierend. Der Niederschlag löste sich in schwachen Alkalien sofort mit hellroter Farbe und gab Oxyhämoglobinspektrum. Zu weiteren Versuchen fehlte mir, da ich erkrankte, die Zeit.

4. Das bei uns in Deutschland früher offizinelle **Extractum Ligni campechiani siccum,** 1%ig in physiol. Kochsalzlösung gelöst, wirkte auf 2%ige Suspension von Menschenblutkörperchen in Versuch 95 in Mengen von 1—5 ccm bei 10 ccm Volumen rasch ausflockend und gab ein von Blutfarbstoff freies aber durch ein Derivat des Hämatoxylins rot gefärbtes Filtrat, das an der Luft allmählich blauviolett wird. Versuch 96 wurde an 5%iger Suspension von 3 mal gewaschenen Hammelkörperchen und in Versuch 97 von Hahnblutkörperchen angestellt. Die auf je 5 ccm Suspension zugesetzten Extraktmengen betrugen 2—5 ccm einer 2%igen Lösung. Es erfolgte auch hier in beiden Versuchen voluminöse Ausflockung. Auch nach 24 Stunden war das Volumen aller Niederschläge noch beträchtlich größer als das der Körperchen in den Kontrollgläschen. Es kann diese Volumsvermehrung nur auf Vergrößerung des Volumens der ganz serumfreien Körperchen gesetzt werden. Das Filtrat war in allen Extraktgläschen frei von Blutfarbstoff. Alle Niederschläge lösten sich nach dem Auswaschen in Wasser bei Zusatz eines Tropfens Natriumkarbonatlösung und enthielten dann Oxyhämoglobin.

In Versuch 98 wurden dieselben Hammelblutkörperchen wie in Versuch 96 in Form einer 5%igen Lösung in destilliertem Wasser angewandt. Auch aus dieser Lösung wurde durch 2—5 ccm der 2%igen Extraktlösung die Gesamtmenge des Blutfarbstoffes ausgefällt, und auch hier war das Volumen überall ein beträchtliches.

In Versuch 99 wurde das Extrakt zu Leberzellen der Katze und in Versuch 100 zu Schleimhautzellen des Katzen-Dünndarms in Mengen von 50—100 mg zugesetzt. Es erfolgte in beiden Fällen voluminöse Ausflockung; die Filtration ging glatt von statten, und die gewaschenen Filterrückstände gaben an heißen Alkohol eine Substanz ab, die sich von der ursprünglichen durch Fehlen der Leimreaktion unterschied.

Das Kampechenholzextrakt enthält neben Hämatoxylin reichliche Mengen von Hämatoxylinglykosid und von Kampechenholzgerbsäure. Letztere scheint die Leimreaktion, die Blutkörperchenausflockung und die Fällung der Blutkörperchenlösung zu bedingen. Frisch hergestellte Lösung von reinem Hämatoxylin wirkte nämlich in Versuch 101 bis 103 weder auf Gelatinelösung noch auf Blutkörperchen. Auch die bei schweren Durchfällen nach Kobert unzweifelhaft vorhandene nützliche Wirkung des Kampechentees dürfte auf der Kampechenholzgerbsäure beruhen.

Den vorstehenden vier Gerbstoffen dieses Kapitels, die beliebig herausgegriffen sind, hätte ich noch viele andere anfügen können. Die genannten genügen aber, um zu zeigen, daß wohl alle echten Gerbstoffe sich in der biologischen Wirkung dem Tannin und der Eichenrindengerbsäure anschließen. Die unechten, über die anderweitig berichtet werden soll, verhalten sich dagegen ganz anders. Vom pharmazeutischen Standpunkte aus dürfte es sich lohnen die gerbsäurehaltigen Tinkturen und Extrakte des Arzneibuches nach dieser Richtung hin einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen und die Grenzzahlen ihrer Wirkung auf serumfreie Blutkörperchen festzustellen. Weitere Untersuchungen unseres Institutes werden sich damit beschäftigen.

Zum Schluß sei es mir erlaubt, Herrn Geheimrat Kobert, der mir bei dieser meiner Erstlingsuntersuchung dauernd seine persönliche Unterstützung zu teil werden ließ, meinen besten Dank zu sagen.

Lebenslauf.

Ich, Fritz Sachse, wurde am 9. November 1888 als Sohn des Lehrers Alb. Sachse zu N. Marsberg in Westfalen geboren und in der ev. Konfession erzogen. Ich besuchte zunächst die Rektoratschule meiner Heimatstadt, dann das Gymnasium zu Brilon, wo ich Ostern 1908 mit dem Zeugnis der Reife entlassen wurde. Ich studierte Medizin in Marburg S.-S. 1908 bis W.-S. 1909/10, Münster W.-S. 1909/10 bis W.-S. 1911 und Rostock W.-S. 1911 bis S.-S. 1914. Nachdem ich in Rostock die ärztliche Vorprüfung abgelegt hatte, brachte ich hier auch meine sämtlichen klinischen Semester zu und bestand im Mai 1914 das medizinische Staatsexamen, um sodann in Görbersdorf eine Assistentenstelle zu übernehmen.